ISSN 1346-9894

水研センター研報
Bull.Fish.Res.Agen.

水産総合研究センター
研究報告

37

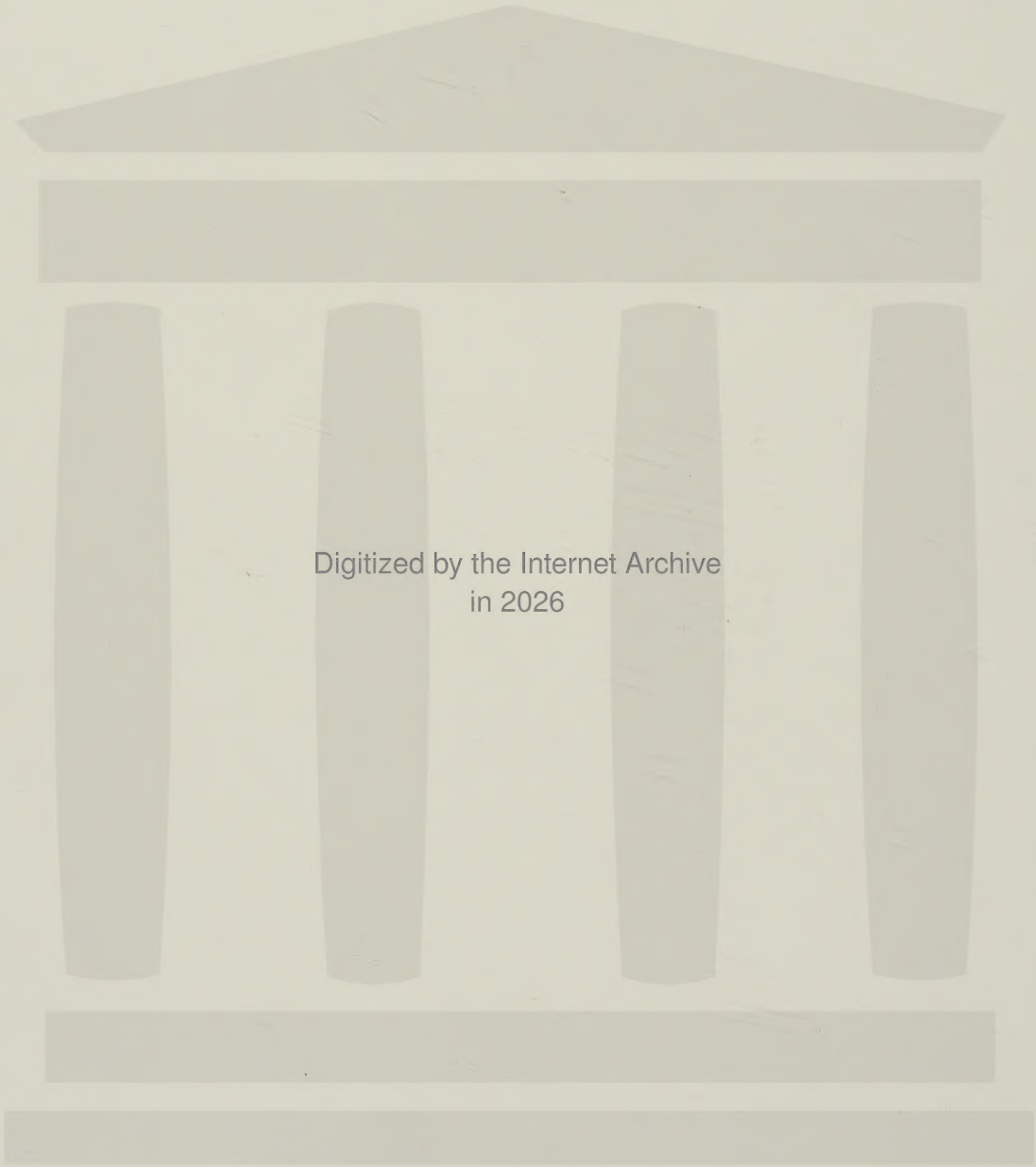
平成25年３月

BULLETIN OF
FISHERIES RESEARCH AGENCY

No. 37
March 2013

Library
Pacific Islands Fisheries Science Center
NOAA Fisheries
Received 22 Oct 2013

独立行政法人 水産総合研究センター
神奈川県横浜市
FISHERIES RESEARCH AGENCY
Yokohama, Kanagawa, Japan



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/bulletin-japan-fisheries-research-education-agency_2013-03_37

CONTENTS

Doctoral Thesis

Mass Balance and Bioaccumulation of Major Dioxins in Sendai Bay
Yutaka OKUMURA 1

Patch study on the early life ecology of Pacific bluefin tuna, Thunnus orientalis, in the Nansei Islands, northwestern Pacific Ocean
Keisuke SATOH 85

Studies on the morphological abnormality of Pleuronectidae: focusing on the metamorphosis-related malformation in hatchery reared fish and its prevention
Masato ARITAKI 147

Stock enhancement in black-spot tuskfish Choerodon schoenleinii
Taku SATO, Yuuki KAWABATA, Koich OKUZAWA, Kimio ASAMI, Masato KOBAYASHI, Hideaki YAMADA, Kouki FUKUOKA, Kenzo YOSEDA, Takayuki TAKEBE, Narisato HIRAI, Yuichi AKITA, Atushi NANAMI, Itaru OHTA, Nobuaki SUZUKI, Masayuki CHIMURA, Yoshimasa AONUMA, Masaya KATOH, Takuro SHIBUNO, and Kazuhisa TERUYA 65

Abstract (JAPANESE) 199

水研センター研報，第37号，1－64，平成25年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 37, 1-64, 2013

博士号論文

Mass Balance and Bioaccumulation of Major Dioxins in Sendai Bay[*1]

Yutaka OKUMURA[*2]

Abstract: "Dioxins" is the general term for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs). Because dioxins are stable chemical compounds, dioxins released into the environment have remained for long periods. The dioxins carried from the terrestrial to the marine environment may affect marine organisms, and it is possible that fishery resources are diminished through the toxicity of dioxins. The aim of this study is to clarify the behavior of dioxins that are emitted from Miyagi Prefecture and enter Sendai Bay via rivers.

First, Chapter 2 describes the properties of dioxins in Sendai Bay, and discusses the bioaccumulation of dioxins through the marine food web and the bioaccumulation of dioxins with respect to the body length of flatfish. The order of concentration of PCDD/Fs was Pacific oyster > Japanese anchovy ≒ marbled sole > Japanese flounder; the concentration in Japanese flounder, which is a higher-trophic-level consumer in the marine food web, was lower than that in shellfish (Pacific oyster) and Japanese anchovy, which are lower-trophic-level consumers. The order of concentration of Co-PCBs was Pacific oyster < Japanese anchovy ≒ marbled sole < Japanese flounder; the concentrations in the higher-trophic-level consumers were higher than the concentrations in the lower-trophic-level consumers. Different PCDD/F congeners tended to bioaccumulate in different organisms. On the other hand, all species of Co-PCB congener tended to bioaccumulate in all organisms.

The relationship between the concentrations of these dioxins and the body length of Japanese flounder was examined. The total PCDD and total PCDF concentrations did not correlate with body length (both $r^2 < 0.1$, both $p > 0.05$), whereas the total non-*ortho* PCB and total mono-*ortho* PCB (Co-PCBs) concentrations were significantly correlated ($r^2 = 0.8$, $p < 0.05$ and $r^2 = 0.63$, $p < 0.05$, respectively). The bioaccumulation properties of PCDD/Fs in Japanese flounder differed from those of Co-PCBs. Toxicity equivalency quotient (TEQ) values derived from the Co-PCBs made up 46.3–63.7% of the total TEQ value for all the dioxins. These results show that from the standpoint of risk management, non-*ortho* Co-PCBs are the most important of the dioxins in Japanese flounder.

In Chapter 3, the vertical distribution of dioxins in a sediment core was investigated to elucidate historical trends of dioxins discharged into Sendai Bay. In the off Naruse sample, the dioxin concentration was 410 pg/g dw in sediments deposited in the mid-1930s and 3870 pg/g dw in those deposited in the mid-1980s. Dioxin fluxes increased from the mid-1930s and then reached a maximum in the mid-1980s. While sedimentation rates of total dioxins in the off Ishinomaki sample were 161.2 pg g^{-1} $year^{-1}$ during 1992–2002 and 172.6 pg g^{-1} $year^{-1}$ during 1981–1992. Thus, the rate during 1992–2002 was slightly lower than that during 1981–1992, and the dioxin sedimentation rate gradually decreased from the mid-1980s to the early 2000s.

Chapter 4 describes the terrestrial sources of dioxins and their concentrations in rivers

2012年9月24日受理（Received on September24, 2012）

*1 京都大学審査学位論文（Ph.D. Thesis, Kyoto University）（掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した）

*2 Tohoku National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Shinhama, Shiogama, Miyagi, Japan (3-27-5, Shinhama, Shiogama, Miyagi, Japan)

leading to Sendai Bay. The major dioxin congeners in the river water were 1, 3, 6, 8-TeCDD, 1, 3, 7, 9-TeCDD, and OCDD. Chemical mass balance model results suggested that chloronitrophen (CNP) and pentachlorophenol (PCP), which are impurities in chlorinated pesticides used in paddy fields, accounted for >90% of PCDD/F contributions, and exhaust gases for <10%. PCA results suggested that PCB products were the major sources of Co-PCBs, although total Co-PCB concentrations were lower than total PCDD/F concentrations.

Concentrations of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD and suspended solids in river water increased with increasing flow rates. During periods of high flow, dioxin concentrations may have increased because of resuspension of bottom sediments that had adsorbed dioxins. In major rivers, the relative magnitudes of the annual average of daily fluxes of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD were: Kyu-Kitakami River > Naruse River > Abukuma River > Natori River. The flux from the Kyu-Kitakami River to Sendai Bay accounted for 49% to 84% of the total flux from the four rivers. The annual fluxes of major dioxin congeners tended to depend on both the size of the land area covered by paddy fields in the river catchments and the discharge rates of the rivers.

Finally, Chapter 5 presents estimates of the flux of major dioxin congeners from Miyagi Prefecture to Sendai Bay. Large quantities of dioxins from CNP and PCP sources were introduced into the terrestrial environment (30.7 t). As the rivers and drainage ditches acted as transport bottlenecks, their inflow from the terrestrial environment to Sendai Bay was limited (241 kg). The bulk of dioxins from CNP and PCP sources remained in the terrestrial environment. Almost all dioxins entering Sendai Bay (7.7 kg/y) either flowed out of the bay or settled to the bay bottom. The amount that bioaccumulated in marine organisms (3.2 g/y) was much less than the amount inflowing from the terrestrial environment to the bay (0.04 %). The major dioxin congeners from impurities in CNP and PCP have much lower toxicities and bioaccumulation rates in marine organisms than low-chlorine 2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs such as 2, 3, 7, 8-TeCDD, which has an extremely high TEF. Therefore, although the influx of dioxins of CNP and PCP origin to Sendai Bay will continue in the future, their bioaccumulation in marine organisms in Sendai Bay will not be a serious problem for fisheries resources.

Keywords: dioxin flux, marine food web, aquatic organisms, chlorinated pesticides, Miyagi Prefecture

---

Contents

Chapter 1. General Introduction
Chapter 2. Properties of dioxins in Sendai Bay
2.1. Major dioxin sources and bioaccumulation of dioxins in aquatic organisms through the food web
2.1.1. Materials and Methods
2.1.1.1. Sampling
2.1.1.2. Analysis of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs (dioxins)
Preparation of analytical samples
Clean-up column chromatography
HRGC/HRMS analysis
2.1.1.3. Calculations of toxic equivalents (TEQ)
2.1.2. Results
2.1.2.1. Dioxin compositions and concentrations
2.1.2.2. Comparison of TEQ values
2.1.3. Discussion
2.1.3.1. Major sources of dioxins in Sendai Bay
2.1.3.2. Bioaccumulation of dioxins through the food web in Sendai Bay
Bioaccumulation of dioxins in phytoplankton and seaweed
Bioaccumulation of PCDD/Fs in fish
Bioaccumulation of PCDD/Fs in

higher-trophic-level invertebrates
Bioaccumulation of Co-PCBs in organisms
2.1.3.3. Comparison of TEQ values
2.2. Bioaccumulation of dioxins with respect to body length of flatfish
2.2.1. Materials and Methods
2.2.1.1. Data analysis
2.2.1.2. Multiple range test of dioxin concentrations
2.2.1.3. Linear regression analysis of the relationship between dioxin concentration and body length
2.2.2. Results
2.2.2.1. Relationship between total dioxin concentration and body length
2.2.2.2. Relationship between PCDD/F congener concentrations and body length
2.2.2.3. TEQ values
2.2.3. Discussion
2.2.3.1. Bioaccumulation of PCDDs and the relationship between concentration and body length
2.2.3.2. Bioaccumulation of PCDFs and the relationship between concentration and body length
2.2.3.3. Bioaccumulation of Co-PCBs and the relationship between concentration and body length
2.2.3.4. TEQ values in Japanese flounder
Chapter 3. Historical trend of dioxins in sediment cores from Sendai Bay
3.1. Materials and Methods
3.1.1. Sampling
3.1.2. Analysis of density, ignition loss, and water content of sediment core samples
3.1.3. Analysis of ^{210}Pb and ^{137}Cs concentrations
3.1.4. Analysis of dioxins and TEQs
3.2. Results
3.2.1. Sediment accumulation histories as determined from ^{210}Pb and ^{137}Cs activities
3.2.2. Composition and historical trends of dioxins in sediment cores
3.2.3. History of dioxin sources
3.2.4. TEQ values
3.3. Discussion
3.3.1. Sedimentation rate in Sendai Bay compared with other areas of Japan
3.3.2. History of dioxin sources in Sendai Bay
3.3.3. Dioxin concentrations in sediments in Sendai Bay compared with those in other areas of Japan
3.3.4. Relationship between maximum dioxin concentrations in the sediments and the time of maximum use of CNP, PCP, and PCB products
3.3.5. TEQ values
Chapter 4. Discharge of dioxins from terrestrial to marine environments
4.1. Dioxin concentrations and estimated sources in four major rivers of Miyagi Prefecture
4.1.1. Materials and Methods
4.1.1.1. Sampling of river water
4.1.1.2. Measurement of dry weight of total suspended solids
4.1.1.3. Analysis of dioxins
4.1.1.4. Principal components analysis (PCA) and chemical mass balance (CMB) analysis
4.1.2. Results
4.1.2.1. Dioxin congeners and TEQs in river water
4.1.2.2. Characterization of dioxin concentrations by PCA and CMB
4.1.2.3. Variations in dioxin concentrations with river flow rate and suspended solids content
4.1.3. Discussion
4.1.3.1. Dioxin congeners and TEQs in river water
4.1.3.2. Characterization of dioxin concentrations by PCA and CMB
4.1.3.3. Variations in dioxin concentrations with river flow rate
4.1.3.4. Changes in total dioxin concentrations with suspended solid loads
4.2. Estimated dioxin discharges into Sendai Bay from terrestrial sources in Miyagi Prefecture
4.2.1. Materials and Methods
4.2.2. Results
4.2.2.1. Daily flow rate
4.2.2.2. Relationship between daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and river

flow rate
4.2.2.3. Estimation of annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD and TEQs into Sendai Bay
4.2.3. Discussion
4.2.3.1. Calculation of daily 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD fluxes in relation to river flow rate
4.2.3.2. Estimation of annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD, and OCDD into Sendai Bay, including TEQ fluxes
Chapter 5. Mass balance of major dioxin congeners from impurities in pesticides used in Miyagi Prefecture
5.1. Materials and Methods
5.1.1. Total amounts of major pesticide dioxins in the terrestrial environment of Miyagi Prefecture from 1963 to 2002
5.1.2. Total emissions from major rivers to Sendai Bay from 1963 to 2002
5.1.3. Annual flux of the major pesticide dioxins in Sendai Bay
5.1.4. Bioaccumulation of the major pesticide dioxins in commercially valuable fish, shellfish, and seaweeds
5.1.5. Discharge from Sendai Bay to offshore waters
5.2. Results
5.2.1. Dioxin flux in the terrestrial environment
5.2.2. Dioxin flux in the marine environment
5.3. Discussion
5.3.1. Dioxin flux in the terrestrial environment
5.3.2. Dioxin flux in the marine environment
Chapter 6. General discussion and summary
6.1. Properties of dioxins in Sendai Bay
6.2. Properties of bioaccumulation of dioxins to marine organisms
6.3. Historical trend of dioxins in sediment cores from Sendai Bay
6.4. Discharge of dioxins from terrestrial to marine environments
6.5. Mass balance of major dioxin congeners from impurities in pesticides used in Miyagi Prefecture
Acknowledgements
References

Chapter 1. General Introduction

"Dioxins" is the general term for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), and coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs) (Fig. 1). Dioxins have 75 PCDD congeners, 135 PCDF congeners, and 12 Co-PCB congeners. Dioxins are highly thermally stable (to >700 °C), highly lipophilic (log [P_{ow}] < 6), and water-insoluble (< 690 ng/L) compounds (Sarna, *et al.* 1984, Woodburn *et al.* 1984, Miller and Waslk 1985, Morita 1991, Devillers *et al.* 1996). Because dioxins are stable chemical compounds, dioxins released into the environment have remained for long periods (Hashimoto *et al.* 1990).

Previously, 2, 3, 7, 8-tetra chlorinated dibenzo-*p*-dioxin (2, 3, 7, 8-TeCDD), as an impurity in herbicides, was emitted into the environment by the spraying of the herbicide "Agent Orange" in the Vietnam War (Booker 2001), by the spraying of waste oil on roads in Times Beach, Missouri, USA, in the early 1970s (U.S. Environmental Protection Agency 1983), and through a blast incident at a chemical plant in Seveso, Italy, in 1976 (Mocarelli *et al.* 1990). These events had worldwide consequences because dioxins have severe toxic effects in humans.

In a laboratory experiment to determine acute toxicity, the 50% lethal dose (34d LD50) of 2, 3, 7, 8-TeCDD for guinea pigs was 0.6 μg/kg (Schwetz *et al.* 1973). Although acute toxicity varies with species, the toxicity of 2, 3, 7, 8-TeCDD is higher than that of sarin or potassium cyanide, and 2, 3, 7, 8-TeCDD is thought to be the most toxic poison among artificial chemicals (Ministry of Environment, Japan 2000a). The toxicity of dioxins is also known to vary with the type of congener. Toxicity equivalency factors (TEFs) for highly toxic dioxin congeners have been established by the World Health Organization (WHO; Van den Berg *et al.* 1998). At present, the TEF of the most toxic congener, 2, 3, 7, 8-TeCDD, is set at 1 as a standard, that for octachlorodibenzo-*p*-dioxin (OCDD) is set at 0.001, and the TEF for 2, 3′, 4, 4′, 5, 5′-hexachlorobiphenyl (2, 3′, 4, 4′, 5, 5′-HCB) is set at 0.00001. The TEFs of 29 dioxin congeners have been defined based on the intensity of their toxicities. The

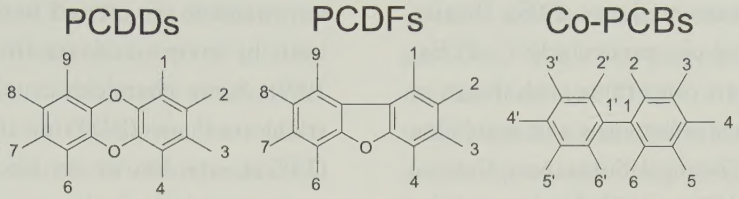


Fig. 1. The skeletal formulas and substituent numbering scheme for dioxins. In polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs), chlorine atoms are attached to this structure at any of 8 places on the molecule (positions 1-4 and 6-9; Wikipedia 2008). In coplanar polychlorinated biphenyls (Co-PCBs), chlorine atoms are attached to this structure at any of 10 places on the molecule (positions 2-6 and 2′-6′). PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs are released into the terrestrial environment as impurities in chlorinated pesticides (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003), in industrial wastewater discharged from pulp mills (Rappe *et al.* 1989, Koistinen *et al.* 1993) and dye manufacturing plants (Kakimoto *et al.* 2006), in fly ash and exhaust gases from incinerators (Sakai *et al.* 1993), and as residues from the manufacture of electrical insulating oil (Kannan *et al.* 1987).

toxic equivalent (TEQ) of a mixture of dioxin compounds is calculated by multiplying the actual mass of each dioxin compound in grams by its corresponding TEF (e.g., 10 g 0.1 TEF = 1 g TEQ) and then summing the results (U.S.E.P.A. 2009).

The chronic toxicity of some dioxin congeners results in carcinogenic or endocrine-disrupting effects (Mocarelli *et al.* 1996). These congeners have large reproductive and immunological impacts on organisms. They also show high bioaccumulation rates and resistance to biodegradation in living organisms. The half-life of TeCDDs in humans is 8.7 y (Booker 2001). Therefore, once in the atmospheric and terrestrial environments, dioxins are eventually transferred to the aquatic environment, where they bioaccumulate in all organisms. In humans, the dominant uptake route is through food (Birmingham *et al.* 1989). To protect humans from risk from dioxins, tolerable daily intake (TDI) values for dioxins have been established by the WHO, or by individual countries throughout the world. In Japan, the TDI was established at 10 pg- TEQ per kg of weight per day (TEQ/kg/d) in 1996, 5 pg-TEQ/kg/d in 1997, and 4 pg-TEQ/kg/d from 1999 to the present (Ministry of Environment, Japan 1999). The regulations concerning TDIs have been strengthened year after year. To comply with these reductions in the TDI, it is necessary to decrease the emission of dioxins. To make this decrease in emission possible, the sources of dioxins have been investigated.

The distributions of the dioxin congeners vary with the source. To determine the relative importance of these various dioxin sources over time, the vertical distribution of concentrations of major dioxin congeners in sediment cores has been investigated (Czuczwa and Hites 1984, Czuczwa *et al.* 1985, Juttner *et al.* 1997, Vartiainen *et al.* 1997, Sakai *et al.* 1999, Masunaga *et al.* 2001b, Yao *et al.* 2002, Kubota *et al.* 2002). In Japan, the major sources of dioxins are thought to be impurities in chlorinated pesticides such as pentachlorophenol (PCP) and chloronitrophen (CNP), and combustion from incinerators (Masunaga *et al.* 2001b). The major sources of dioxins are thought to vary over time.

In 1999, dioxins from incinerator combustion were regulated by the law concerning special measures against Dioxins (the law number 105; Ministry of Internal Affairs and Communications, Japan 1999). As a result, the quantity of dioxins emitted from industrial activity, such as incineration, was gradually reduced from 7680-8135 g-TEQ/y in 1997 to 341-363 g-TEQ/y in 2004, an 8-y decrease of over

95% (Ministry of Environment, Japan 2005). Dioxins from electrical insulating oil, particularly Co-PCBs, were regulated by the law concerning such things as the evaluation of chemical substances and regulation of their manufacture (Chemical Substances Control Law, the law number 117) in 1973 (Ministry of the Environment, Japan 2007, Ministry of Internal Affairs and Communications 2010) and a 2001 special law concerning adequate disposal of PCBs, the law number 65 (Ministry of Internal Affairs and Communications, Japan 2005). During the period from 2001 to 2016, all waste PCBs in safe storage at various sites throughout Japan must broken down into harmless products by a thermal treatment plant at the Japan Environmental Safety Corporation (Japan Environmental Safety Corporation 2004). However, dioxins from large quantities of chlorinated pesticides are thought to remain in rice paddies (Kobayashi *et al.* 2004a), even though permission to use these agrochemicals was cancelled in 1996 for CNPs and over the period from 1975–1989 for PCPs (Agricultural Chemicals Inspection Station 2007). For a complete assessment of the environmental impacts of residual dioxins from CNP and PCP products, it is important to understand their behavior in terrestrial and aquatic environments near an area of grain production.

Dietary intake of dioxins by the Japanese population has been investigated by the Ministry of Health, Labour and Welfare (2007). Dioxin intake decreased from 8.18 pg-TEQ/kg/d in 1977 to 1.04 pg-TEQ/kg/d in 2006. However, in 1999, when countermeasures against dioxins were enacted into law, the dioxin intake was 2.72 pg-TEQ/kg/d. Despite the 95% decrease in industrial dioxin emissions during the 8 years from 1997 to 2004, the decrease in dietary dioxin intake during the 8 years from 1999 to 2006 was only about 60%; from 2.72 to 1.04 pg-TEQ/kg/d. The dioxin intake was reduced, but not far enough. For the Japanese, fish and shellfish are thought to be major components of dioxin intake (Takayama *et al.* 1991, Toyoda *et al.* 1999, Tsutsumi *et al.* 2001). Thus, to further decrease dioxin intake, it is necessary to investigate the bioaccumulation properties of dioxin congeners in marine organisms.

Chemicals emitted from the terrestrial environment are carried to the marine environment both by rivers and via the atmosphere (Takada 1997). Some chemicals, such as dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) or triphenyltin compounds (TPTs), are known to bioaccumulate in marine organisms through the marine food web (Woodwell *et al.* 1967, Ikeda *et al.* 2002). Dioxins are toxic compounds that accumulate in aquatic organisms (Satomi 1992). Therefore, dioxins carried from the terrestrial to the marine environment may affect marine organisms, and it is possible that fishery resources are diminished through the toxicity of dioxins.

Sendai Bay, located in the Tohoku region of Japan, is an area of fishing and aquaculture. Miyagi Prefecture near Sendai Bay is a granary area of Japan. The aim of this study is to clarify the behavior of dioxins that are emitted from Miyagi Prefecture and enter Sendai Bay via rivers. First, Chapter 2 describes the properties of dioxins in Sendai Bay, and discusses the bioaccumulation of dioxins through the marine food web and the bioaccumulation of dioxins with respect to the body length of flatfish. Chapter 3 describes historical trends of dioxins in sediments. Chapter 4 describes the terrestrial sources of dioxins and their concentrations in rivers leading to Sendai Bay. Finally, Chapter 5 presents estimates of the flux of major dioxin congeners from Miyagi Prefecture to Sendai Bay.

Chapter 2. Properties of dioxins in Sendai Bay

To decrease the risk of dioxin exposure for the Japanese people, the findings from several studies of dioxins have been compiled by the government of Japan (Prime Minister of Japan and His Cabinet 2007). The dioxin concentrations in fishes, which are main dietary uptake route of dioxins for Japanese (Takayama *et al.* 1991, Toyoda *et al.* 1999, Tsutsumi *et al.* 2001), were frequently monitored to compare the dioxin levels in the several species of fish collected from several areas (Fisheries Agency, Japan 2003). For example, high TEQ values of 4.5–16 pg-TEQ/g-wet-weight were detected in samples of Japanese conger (Conger myriaster) and sea bass (Cynoscion nobilis) collected from Tokyo Bay, which

is adjacent to urban areas. The supply of dioxins to Tokyo Bay is through transport by river inflows (Iimura *et al.* 2002). The dioxin concentrations in sediments in marine environments were also monitored to trace the sources of dioxin emissions (Ministry of the Environment, Japan 1996-2005). The major dioxin sources in Tokyo Bay are multiple incinerators and impurities in chlorinated pesticides (Yamashita *et al.* 2000); in Lake Shinji, in western Japan, the major dioxin source is impurities in chlorinated pesticides (Masunaga *et al.* 2001b). The dioxin sources are not always the same at different locations.

There is not much data available concerning dioxin levels in the Tohoku region of Japan, which thrives on agriculture and aquaculture. This study was undertaken to determine levels of dioxin pollution in the Tohoku region of Japan.

2.1. Major dioxin sources and bioaccumulation of dioxins in aquatic organisms through the food web

Sendai Bay is a fishing ground for marbled sole; *Pseudopleuronectes yokohamae* and Japanese flounder; *Paralichthys olivaceus* and an aquaculture ground for the Pacific oyster; *Crassostrea gigas*. The data in this section includes the concentrations of dioxin congeners in the phytoplankton, seaweed, zooplankton, mysids, shrimp, sand worms, the Pacific oyster, sand lance; *Ammodytes personatus*, *Japanese anchovy*; *Engraulis japonica*, and the 2 flatfish species as well as in seawater and sediment samples from Sendai Bay as determined by high-resolution gas chromatography/high-resolution mass spectroscopy (HRGC/HRMS).

Phytoplankton and seaweed are primary producers and the lowest-trophic-level organisms in coastal waters. Small zooplankton, which mostly consume phytoplankton, are regarded as primary consumers and low-trophic-level invertebrates. Mysids consume both phytoplankton and small zooplankton (Yamada *et al.*, 1995), and shrimp prey mainly on zooplankton (Ikematsu, 1963). Both of these crustaceans are considered to be secondary consumers and higher-trophic-level invertebrates. Sand worms are benthic sediment feeders and omnivores (Fauchald and Jumars, 1979). The Pacific oyster, a suspension feeder whose main food is plankton, is a lower-trophic-level consumer in the marine food web (Tamura 1960). The sand lance, which feeds mainly on planktonic and epibenthic zooplankton, including mysids (Kobayashi *et al.*, 1995; Yamada, 1997b) and the Japanese anchovy, whose main prey organisms are zooplankton (Mitani 1988), can be classified as secondary consumers. Japanese flounder, which feed on small fishes such as Japanese anchovy and Japanese sand lance (Yamada *et al.* 1998), and marbled sole, which feed on benthos such as polychaetes (Omori 1974), are higher-trophic-level consumers. Measuring the PCDD, PCDF, and Co-PCB concentrations in samples of these organisms helps to investigate the major sources of these chemicals as well as the relationships between several trophic levels in the marine food web along with the concentrations of these chemicals.

2.1.1. Materials and Methods

2.1.1.1. Sampling

The following types and numbers of samples were collected from November 1999 to August 2001 in Sendai Bay (Fig. 2): land soil ($n=1$), surface seawater ($n=4$), sea bottom sediments ($n=3$), seaweed (*Eisenia bicyclis*, $n=1$; *Porphyra yezoensis*, $n=1$), phytoplankton ($n=1$), Pacific oyster (*Crassostrea gigas*, $n=3$), zooplankton ($n=2$), mysids (*Acanthomysis mitsukurii*, $n=1$), other shrimp (*Trachypenaeus* sp., $n=1$; *Crangon* sp., $n=2$), sand lance (*Ammodytes personatus*, $n=2$), Japanese anchovy (*Engraulis japonica*, $n=6$), Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*, $n=11$), sand worm (Cirratulidae, Nereidae, and Eunicidae mixed, $n=2$), and marbled sole (*Pseudopleuronectes yokohamae*, $n=12$). The land soil sample was collected from a point approximately 50 m from the coast of Sendai Bay and approximately 500 m from the nearest incinerator. The surface seawater samples, which were collected using a water-sampling bucket, were transferred to two 10-L glass bottles and stored in a refrigerator. Phytoplankton were collected by pumping surface seawater and filtering it through a plankton net (mesh size, 20 μm) on board of a fishing boat. Zooplankton were collected by level tows with a ring net ($\phi=130$ cm; mesh size, 0.33 mm). Mysids

were caught from the bay bottom at 10 m depth with a beam trawl (mesh size, 3 mm). Shrimp and sand lance were collected with a bottom trawl net. Sand worms were handpicked from the intertidal zone of Matsushima Bay. Pacific oysters were obtained from a nearby aquaculture ground. Fish samples were collected with a bottom trawl net. The body lengths (total length) of the flatfish were measured, several small fish were combined together as a sample, and their average body length was calculated. Sediment samples were collected with an Ekman-Berge bottom sampler, or by scooping. Sediment, soil, and biological samples of approximately 100 g wet-weight were used for dioxin analyses. Since the weight of each organism was much less than 100 g, samples collected from the same station at the same sampling time were mixed, and the combined samples were used for the analysis. Biological, sediment, and soil samples were kept frozen until analysis.

To identify species, a given quantity of phytoplankton, zooplankton, mysid, shrimp and sand worm samples were fixed in neutral formalin and identified under a light microscope. The predominant algal class in the phytoplankton sample was Bacillariophyceae. Diatom cells constituted approximately 95% of all algal cells. In particular, *Skeletonema costatum* constituted approximately 68%. In the zooplankton sample, zoea of Brachyura accounted for more than 97% of the total number of individuals. In the mysid sample, *Acanthomysis mitsukurii* constituted approximately 53% of the total number of individuals.

Seawater samples were filtered through a Millipore HA filter (ϕ: 47 mm; pore size: 0.45 μm), dried, and then weighed to determine the dry weight (dw) of total suspended matter (mainly phytoplankton; Uematsu *et al.* 1978). The dw of suspended matter (mainly phytoplankton) in a 1-L seawater sample was estimated to be approximately 1 g, on the assumption that 1 g dry weight of suspended matter (phytoplankton) was equal to 10 g wet weight (Motoda 1994, Tanaka 2006).

2.1.1.2. Analysis of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs (dioxins)

Concentrations of PCDDs and PCDFs with from 4 to 8 chlorines, and Co-PCBs were determined by the methods reported by the Ministry of the Environment (Ministry of the Environment: 1998a, 1998b, 2000b). Briefly, the methods are as follows.

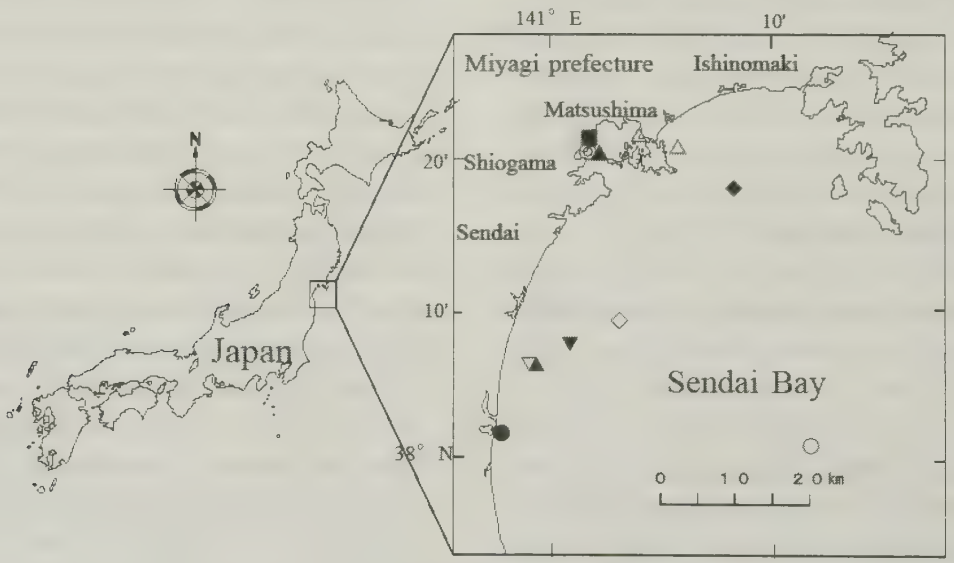


Fig. 2. Sampling sites in Sendai Bay. ■: Soil; ◎ : sediment and sand worms; ▲: seawater and sediment; △: Pacific oyster; ◆: seawater; ◇: Japanese anchovy, marbled sole, and Japanese flounder; ▼: phytoplankton, shrimp, and zooplankton; ▽ : mysids and zooplankton; ○ : sand lance and shrimp; ●: seaweed.

Preparation of analytical samples

The frozen sediment and soil samples were thawed and then air-dried overnight. Each air-dried sample was weighed, spiked with a ^{13}C-labeled internal standard and copper, and then Soxhlet-extracted for 18 h in toluene. The extract was concentrated by rotary evaporation at low pressure, redissolved in hexane, concentrated for clean-up, and then treated with sulfuric acid and concentrated again prior to HRGC/HRMS analysis.

The frozen, whole-body biological samples were homogenized, weighed, spiked with a ^{13}C-labeled internal standard, and saponified with potassium hydroxide and methanol for 8–12 h, and then extracted 3 times with hexane in a separating funnel using a shaker for 10 min. The hexane extracts were treated with sulfuric acid and concentrated again prior to HRGC/HRMS analysis.

Twenty liters of the refrigerated seawater samples were filtered through glass-fiber filters (ϕ: 95 mm; pore size: 0.8 μm) (Kiriyama glass Co., Tokyo, Japan). The filtrate was extracted into dichloromethane, and the residue was Soxhlet-extracted in toluene for more than 16 h. Each extract was spiked with a ^{13}C-labeled internal standard and then treated with sulfuric acid and concentrated again prior to HRGC/HRMS analysis.

Clean-up column chromatography

Each sample extract was purified by silica-gel, alumina, and activated-carbon column chromatography. The final eluate from the column chromatograph was concentrated and subjected to congener-specific analysis by HRGC/HRMS on an AutoSpec Ultima spectrometer (Micromass Ltd.).

HRGC/HRMS analysis

Tetra- to hexachlorodibenzo-*p*-dioxin and -dibenzofuran congeners were analyzed on an SP-2331 column (ϕ0.32 mm × 60 m) (Sigma-Aldrich). Hepta- to octachlorodibenzo-*p*-dioxin and -dibenzofuran congeners and tetrachlorobiphenyls were analyzed on a DB-17 column (ϕ 0.32 mm × 60 m) (J&W Scientific). Non-*ortho* and mono-*ortho* penta- to heptachlorinated biphenyls were analyzed on DB-17 (J&W Scientific) and DB-5MS (ϕ 0.25 mm ×60 m) (J&W Scientific) columns, respectively. The temperature program for the analysis using the SP-2331 column was; 150 °C for 1 min, 15 °C/min to 200 °C, hold for 5 min, 2 °C/min to 250 °C, and then hold for 30 min. The temperature program for the DB-17 column was: 150 °C for 1 min, 15 °C/min to 270 °C, and then hold for 20 min. The temperature program for the DB-5MS column was: 150°C for 1 min, 15 °C/min to 200 °C, hold for 5 min, 2 °C/min to 270 °C, and then hold for 5 min. The temperatures of the injector and ion source were both 260 °C. Mass spectrometry was performed in electron impact (EI) mode. The voltage and current of the electron-impact ionization energy were 30 eV and 500 μA, respectively. The mass spectrometer was operated at a resolution of 10,000. The detection limits for the tetra-, penta-, hexa-, hepta-, and octachlorinated PCDD/F congeners in the sediment and soil samples were 1, 1, 2, 2, and 5 pg/g dry weight (dw), respectively. The detection limits in seawater were 0.05, 0.05, 0.1, 0.1, and 0.2 pg/L, respectively. The detection limits in the biological samples were 0.05, 0.05, 0.1, 0.1, and 0.2 pg/g wet weight (ww). The detection limits for Co-PCBs in the sediment and soil, seawater, and biological samples were 1 pg/g dw, 0.1 pg/L, and 0.1 pg/g ww, respectively.

2.1.1.3. Calculations of toxic equivalents (TEQ)

The average TEQ of each biological sample was calculated by using toxic equivalency factors (TEFs) for humans/mammals provided by the World Health Organization (Van den Berg *et al.* 1998).

2.1.2. Results

2.1.2.1. Dioxin compositions and concentrations

Of the environmental dioxin samples, the relative amounts of dioxins in soil increased in the following order: Co-PCBs < PCDFs < PCDDs (Fig. 3). The soil sample was the only one in which PCDF concentrations were higher than Co-PCB concentrations. Concentrations in sediment and seawater samples, as well as in seaweed, phytoplankton, and Pacific oyster of the biological samples, increased in the following order: PCDFs < Co-PCBs < PCDDs. The relative proportions of these components in seaweed, phytoplankton, and Pacific oyster were similar to those in the sediment and seawater samples. The concentrations of dioxins in

the other biological samples increased in the following order: PCDFs < PCDDs < Co-PCBs. Co-PCB concentrations were higher than PCDD/F concentrations.

The predominant PCDD congeners were OCDD in soil, 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD in sediment, seawater and phytoplankton, and 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD in invertebrates (Figs. 4 and 5). In all samples, concentrations of 2, 3, 7, 8-substituted PCDDs except OCDD, were much lower than those of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD, and 2, 3, 7, 8-TeCDD, with few chlorine substitutions, was frequently below the detection limit. Of the Co-PCBs, concentrations of mono-*ortho* PCBs (PCB #104, #114, #118, #123, #156, #157, #167, and #189) were higher than those of non-*ortho* PCBs (PCB #77, #81, #126, and #169). Mono-*ortho* PCBs accounted for over 80% of the Co-PCBs. PCB #118 was the predominant congener of the mono-*ortho* PCBs, and PCB #77 was the predominant congener of non-*ortho* PCBs, whereas PCB #169 was lowest in concentration of all Co-PCBs. However, in the environmental samples, the ratio of PCB #118 to total mono-*ortho* PCBs and the ratio of PCB #77 to total non-*ortho* PCBs in soil tended to be slightly lower than these ratios in sediment and seawater.

Co-PCB concentrations in food webs increased in the following order: seaweed < phytoplankton < Pacific oyster, phytoplankton < zooplankton < mysids and other shrimp < sand lance and Japanese anchovy < Japanese flounder, sand worm < marbled sole (Fig. 3). Co-PCB concentrations in the higher-trophic-level consumers tended to be higher than those in the lower-trophic-level consumers.

The trends of PCDD/F concentrations in food webs were more complex: seaweed < phytoplankton < Pacific oyster, zooplankton < mysids and other shrimp, mysid and other shrimp > sand lance and Japanese anchovy > Japanese flounder, sand worm > marbled sole. PCDD/F concentrations in the higher-trophic-level invertebrates tended to be higher than those in the lower-trophic-level invertebrates, whereas PCDD/F concentrations in the higher-trophic-level fishes tended to be lower than those in the lower-trophic-level fishes.

2.1.2.2. Comparison of TEQ values

In a comparison of TEQ values among all samples, PCDD TEQs were higher than PCDF and Co-PCB TEQs in environmental, plant, and invertebrate

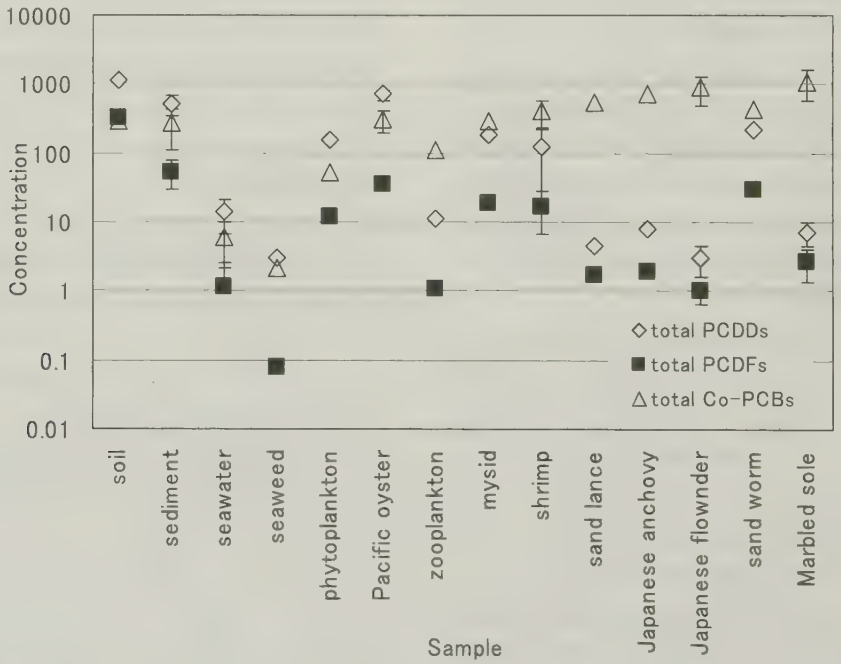


Fig. 3. Total PCDD, total PCDF, and total Co-PCB concentrations in soil (pg/g dry weight), sediment (pg/g d.w.), seawater (pg/L), and biological samples (pg/g wet weight).

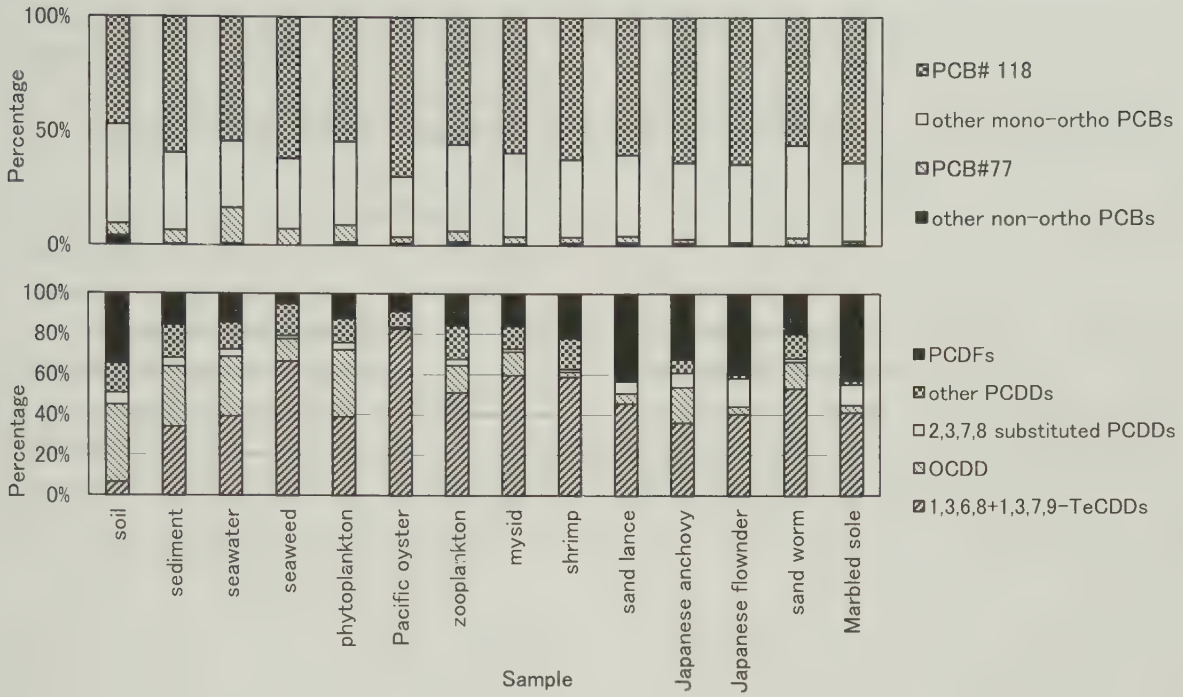


Fig. 4. Relative amounts of PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs in soil, sediment, seawater, and biological samples. "Other" mono-*ortho* PCBs are PCB #104, #114, #123, #156, #157, #167, and #189. "Other" non-*ortho* PCBs are #81, #126, and #169. 2, 3, 7, 8-substituted PCDDs include 2, 3, 7, 8-TeCDD, 1, 2, 3, 7, 8-PeCDD, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD, 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD, and 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD, and exclude OCDD.

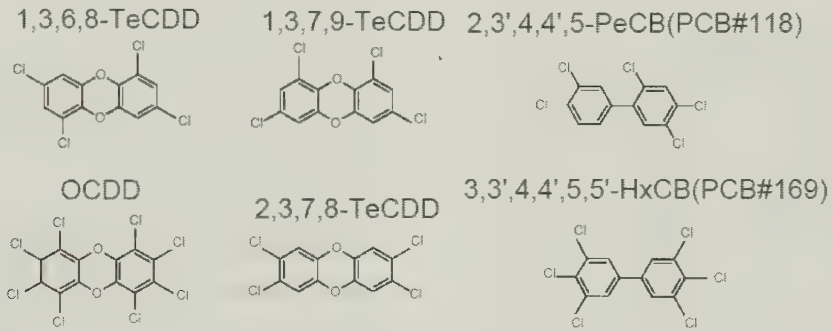


Fig. 5. Structures of typical dioxin congeners. 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD — which are non-2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs with no chlorine substitution at the 1, 4 and/or 6, 9 positions — are known to show high bioaccumulation and high elimination in fish. OCDD is in the group of 1, 4- or 6, 9-substituted PCDD/F congeners, which are known to show low bioaccumulation in fish. 2, 3, 7, 8-TeCDD is one of the PCDD/Fs without chlorine substitutions at the 1, 4 and/or 6, 9 positions, known to show high bioaccumulation and low elimination in fish (they are easily adsorbed into fatty tissue, thereby delaying their elimination; Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). Compared to the bioaccumulation properties of PCDD/F congeners, bioaccumulations of Co-PCB congeners are all relatively similar, with bioaccumulations higher than those of PCDD/Fs (Niimi 1996). 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD congeners are thought to be impurities of the pesticide 1, 3, 5-trichloro-2-(4-nitrophenoxy)benzene (CNP), and the OCDD congener is thought to be an impurity of the pesticide pentachlorophenol (PCP; Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003). OCDD has also been detected in fly ash and exhaust gases from incinerators (Sakai *et al.* 1993). PCB #118 was the predominant congener of the mono-*ortho* PCBs in samples. PCB #169 is thought to originate from incinerator emissions rather than from the manufacture of such items as electrical insulating oil (Masunaga 2000).

samples (Table 1). In fish samples, Co-PCB TEQs were higher than PCDD and PCDF TEQs. Dioxin TEQs in the Pacific oyster, Japanese flounder, and marbled sole, which comprise the major fishery in Sendai Bay, ranged from 0.87 to 1.6 pg-TEQ/g ww.

2.1.3. Discussion

2.1.3.1. Major sources of dioxins in Sendai Bay

1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD were the predominant PCDD congeners in seawater and sediment collected from Sendai Bay (Fig. 4). Almost all other studies report that the predominant PCDD congener in oceanic sediment is OCDD; TeCDDs are not major PCDD congeners (Rappe *et al.* 1987, Evers *et al.* 1993, Gotz *et al.* 1993, Wenning *et al.* 1993, Brochu *et al.* 1995, Sook-Hyeon *et al.* 1995, Masunaga *et al.* 1997, Sakurai *et al.* 2000, Wenning *et al.* 2000, Wu *et al.* 2001). The profiles of PCDD/F congeners in Sendai Bay, in which TeCDDs were the major PCDD congeners, are more similar to the profile of paddy field soil (Masunaga *et al.* 1997) than to that of sediment (Rappe *et al.* 1987, Evers *et al.* 1993, Gotz *et al.* 1993, Wenning *et al.* 1993, Brochu *et al.* 1995, Sook-Hyeon *et al.* 1995, Masunaga *et al.* 1997, Sakurai *et al.* 2000, Wenning *et al.* 2000, Wu *et al.* 2001). In many samples from Sendai Bay, the sum of the concentrations of the 1,3,6,8- and 1,3,7,9-TeCDD congeners, which are thought to be impurities of the pesticide CNP (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003), was highest among the PCDD/F congeners (Figs. 4 and 5). This reflects the fact that shipments of CNP products to Miyagi Prefecture, the so-called granary of Japan, were higher than to any other prefecture in Japan in 1971, 1975, 1976, 1979, 1981, 1982, and from 1984 to 1989, and that in 1975 more than 4000 t of CNP products were shipped to Miyagi Prefecture, the highest shipment between 1965 and 1995 (Japan Plant Protection Association 1963–1995).

The composition of PCDD congeners in soil, which was influenced by atmospheric deposition, differed from those in seawater and sediment (Fig. 4). OCDDs were the major PCDD congeners, whereas the ratio of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD to total PCDDs in soil was much lower than those in seawater and sediment, suggesting that the PCDD concentrations in Sendai Bay are influenced more by pesticide impurities than by atmospheric deposition.

The total PCDF concentration in soil, which was influenced by atmospheric deposition, was slightly higher than the total Co-PCB concentration, and the ratio of the PCDF to the Co-PCB concentrations was higher than that in seawater and sediment (Fig. 3). Thus, it is possible that the major source of PCDFs in Miyagi Prefecture is atmospheric deposition. On the other hand, total PCDF concentrations in sediment and seawater samples were lower than total Co-PCB concentrations, and were approximately 1 order of magnitude lower than total PCDD concentrations. Accordingly, PCDFs were not major contributors to dioxin concentrations in Sendai Bay.

The profiles of non-*ortho* PCBs (PCB #77, #81, #126, and #169) in the seawater and sediment samples, of which more than 80% was PCB #77 (Fig. 4), were similar to those of non-*ortho* PCBs released during the manufacture of items such as electrical insulating oil (Kannan *et al.* 1987). In contrast, in the soil sample, PCB #77 comprised only approximately 60% of the total non-*ortho* PCBs (Fig. 4); the profile of non-*ortho* PCBs was similar to that resulting from fly ash and atmospheric deposition rather than that from the manufacture of items such as electrical insulating oil (Kurokawa *et al.* 1994). The concentration of PCB #118 accounted for a larger proportion of the mono-*ortho* Co-PCB concentrations in sediment and seawater than in soil (Fig. 4). PCB #118 is thought to originate from the manufacture of items such as electrical insulating oil rather than from incinerator emissions (Takasuga *et al.* 1995, Anezaki *et al.* 2007). The low percentages of PCB #77 and high #118 suggest that the dioxin concentrations in seawater and sediment in Sendai Bay were influenced more by the manufacture of items such as electrical insulating oil than by atmospheric deposition of incinerator emissions.

2.1.3.2. Bioaccumulation of dioxins through the food web in Sendai Bay

Bioaccumulation of dioxins in phytoplankton and seaweed

The composition of PCDD/F congeners in phytoplankton was similar to that in sediment rather than to that in the other organisms analyzed in this study (Fig. 4). This difference may indicate that

adsorption of dioxin particles onto the surface of phytoplankton plays an important role in the concentration of dioxins in phytoplankton. Even though both phytoplankton and seaweeds are autotrophic, dioxin concentrations were much higher in phytoplankton than in seaweed (Fig. 3). Even with the same "efficiency", there would be more adsorption on an equal phytoplankton biomass because of the greater surface area.

Bioaccumulation of PCDD/Fs in fish

The bioaccumulation of PCDD/Fs in fish is known to vary by kind of congener. It is possible to classify these congeners into three groups based on their bioaccumulation properties in fishes (Fig. 5). For example, 2, 3, 7, 8-TeCDD is a member of the 2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs with no chlorine substitution at the 1,4 and/or 6,9 positions, which are known to show high bioaccumulation and low elimination; they are easily adsorbed into fatty tissue, thereby delaying their elimination (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD, which are non-2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs with no chlorine substitution at the 1, 4 and/or 6, 9 positions, are known to show high bioaccumulation and high elimination (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). OCDD belongs to the group of 1, 4- or 6, 9-substituted PCDD/F congeners, which are known to show low bioaccumulation (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). The major PCDD/F congeners in seawater and sediment samples from Sendai Bay were 1, 3, 6, 8-TeCDD and OCDD (Fig. 4). The concentrations of 2, 3, 7,8-substituted PCDD/Fs, such as 2, 3, 7, 8-TeCDD, were below the detection limit or were much lower than those of 1, 3, 6, 8-TeCDD and OCDD. PCDD/F congeners in Sendai Bay which were the type showing high elimination and low bioaccumulation in fishes. Therefore, PCDD/F concentrations in the higher-trophic-level fishes tended to be lower than those in the lower-trophic-level fishes.

Bioaccumulation of PCDD/Fs in higher-trophic-level invertebrates

The bioaccumulation patterns of PCDD/Fs in invertebrates differ from those in fishes (Sasaki, 2000). The concentration of 1, 3, 6, 8-TeCDD was higher in the snail *Indoplanorbis exustus* than in the fish *Oryzias latipes* (Allinson *et al.*, 1994). Furthermore, the concentrations of PCDD/Fs with few chlorines, such as 1, 3, 6, 8-TeCDD, in invertebrates tended to be higher than those of highly chlorine-substituted PCDD/Fs, such as OCDD (Hashimoto *et al.*, 1998, 1999; Sakurai *et al.*, 2000; Sasaki, 2000). The bioaccumulation in invertebrates may be influenced more by the number of chlorine substituents in PCDD/F homologs (that is, differences between PCDD/Fs with fewer or more chlorine atoms), rather than by difference in structure (such as non-2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs compared to 2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs). The major PCDD/F congeners in sediment samples from Sendai Bay were 1, 3, 6, 8-TeCDD and OCDD (Fig. 4). Almost all PCDD/F congeners in Sendai Bay were the type showing higher bioaccumulation in invertebrates than in fish. Therefore, the PCDD/F concentrations in the higher-trophic-level invertebrates were higher than in the lower-trophic-level organisms (e.g., phytoplankton < Pacific oyster, zooplankton < mysids and shrimp).

Bioaccumulation of Co-PCBs in organisms

The bioaccumulation patterns of Co-PCBs are known to vary from those of PCDD/Fs. Compared to PCDD/F congeners, bioaccumulation patterns of Co-PCB congeners are all relatively similar (Niimi 1996). Furthermore, bioaccumulations of Co-PCBs are higher than those of PCDD/Fs (Niimi 1996). As all Co-PCB congeners are thought to bioaccumulate in organisms throughout the food web, it was no surprise that Co-PCB concentrations were higher in higher-trophic-level organisms than in lower-trophic-level organisms.

2.1.3.3. Comparison of TEQ values

The TEQ values of total dioxins in Pacific oyster, Japanese flounder, and marbled sole, which are major fishery resources in Sendai Bay, ranged from 0.87 to 1.6 pg-TEQ/g ww (Table 1). These TEQs were calculated based on whole-body samples in this study. In other studies, the TEQs of fish and shellfish averaged 0.932 pg-TEQ/g ww(Fisheries Agency, Japan 2000a), 0.816 pg-TEQ/g (Fisheries Agency, Japan 2000b), and 1.468 pg-TEQ/g ww (Ministry of Health, Labour and Welfare 1999). The levels in our study agree with these previously published TEQs of fish and shellfish.

2.2. Bioaccumulation of dioxins with respect to body length of flatfish

The bioaccumulation of chemicals is known to vary with the body size of aquatic organisms (Schimmel *et al.* 1977, Yamada *et al.* 1995), but few field studies have examined the relationship between the body length of fish and the concentration of dioxins. For the purpose of determining the bioaccumulation properties of each dioxin congener in higher-trophic-level fish with respect to body length, I measured the concentrations of dioxin congeners in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) of various body lengths collected from Sendai Bay, Japan, and investigated the relationship between body length and dioxin concentration. In one study, Japanese flounder —whose main prey organisms are Japanese anchovy and sand lance— was found to be a higher-trophic-level organism (Ochiai 1966). Another study reported that the total length of Japanese flounder was significantly correlated with body weight (Kitagawa *et al.* 1994). The maturation age was estimated from maturation size to be three years (Sato 1975).

2.2.1. Materials and Methods

2.2.1.1. Data analysis

The data analyses presented in the following sections were performed on the data already presented in Chapter 2.1.

2.2.1.2. Multiple range test of dioxin concentrations

The values for dioxin concentrations below detection limits were set to 0 pg/g ww. Multiple range tests were conducted to compare the mean difference of TEQ values among PCDDs, PCDFs, non-*ortho* PCBs, and mono-*ortho* PCBs. After a one-way analysis of variance was conducted to examine whether the variances were equal or unequal, multiple range tests for unequal variances (Tamhane's test) were conducted. The data from these tests were analyzed with the SPSS 11.0J for a Windows base system (SPSS Inc., Chicago, USA).

2.2.1.3. Linear regression analysis of the relationship between dioxin concentration and body length

The coefficients of determination (r^2) and the probability values (P) for the relationship between the dioxin concentrations and flounder body lengths were calculated by simple linear regression: concentration of dioxin congener (pg/g ww) = $ax + b$, where x is the body length (cm), a the slope, and b the intercept. When the linear relationship was not significant ($P > 0.05$), polynomial regressions were conducted using $y = a_1x^2 + a_2x + b$, where y is the concentration of the dioxin congener (pg/g ww), x the body length (cm), a_1 and a_2 the slope, and b the intercept. Polynomial regression provided when the relationship between x and y was nonlinear. The polynomial regressions were also conducted using the SPSS 11.0J system.

Table 1. TEQ of each sample

	PCDDs	PCDFs	Co-PCBs	Total Dioxins
soil	5.8	5.7	0.97	12
sediment	1.5±1.3	0.73±0.62	0.14±0.12	2.4±1.6
seawater	0.0063±0.003	0.003±0.0038	0.0059±0.011	0.015±0.015
seaweed	0.0006	0	0.0003	0.0008
phytoplankton	0.24	0.14	0.045	0.43
Pacific oyster	0.47±0.19	0.22±0.095	0.19±0.046	0.87±0.32
zooplankton	0.054	0.041	0.14	0.23
mysid	0.25	0.23	0.18	0.66
shrimp	0.46±0.19	0.34±0.11	0.39±0.04	1.2±0.33
sand lance	0.23	0.26	0.63	1.1
Japanese anchovy	0.29	0.31	0.67	1.3
Japanese flounder	0.3±0.084	0.19±0.064	0.65±0.25	1.1±0.38
sand worm	0.54	0.36	0.49	1.4
Marbled sole	0.62±0.35	0.33±0.2	0.67±0.2	1.6±0.72

Units: seawater-pgTEQ/L; sediment, soil-pgTEQ/g dw; biological sample-pgTEQ/g ww.

2.2.2. Results

2.2.2.1. Relationship between total dioxin concentration and body length

The total PCDD and total PCDF concentrations were not significantly correlated with body length (r^2 =0.03 and 0.007, respectively; $P > 0.05$ for both) (Fig. 6). In contrast, the total non-*ortho* PCB and total mono-*ortho* PCB concentrations were significantly correlated with body length (r^2=0.80 and 0.63, respectively; $P < 0.01$ for both), and the slopes of the linear regressions were positive (0.81 and 39.2, respectively). The relationships between concentration and body length varied with the type of dioxin.

2.2.2.2. Relationship between PCDD/F congener concentrations and body length

Among the PCDD congeners, the concentration of 1, 3, 6, 8-TeCDD was the highest, and was not significantly correlated with body length ($r^2 < 0.1$, $P > 0.05$; Fig. 7). In contrast, 2, 3, 7, 8-TeCDD and OCDD concentrations were significantly correlated with body length (r^2=0.55 and 0.72, respectively; $P < 0.01$ for both), and the slopes of the linear regressions were positive (0.0035) and negative (-0.017), respectively. The concentration of 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD was significantly correlated with body length by polynomial regression (r^2=0.53, $P < 0.01$).

Of the PCDF congeners, concentrations of 2, 3, 7, 8-TeCDF and 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF were significantly correlated with body length (r^2=0.56 for both, $P < 0.01$ for both; Fig. 8), and the slopes of the linear regressions were positive (0.011 and 0.0098, respectively).

The concentrations of 2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF, and the concentrations of 1, 2, 3, 4, 7, 8- and 1, 2, 3, 4, 7, 9-HxCDF combined were significantly correlated with body length (r^2=0.41 and 0.40, respectively; $P < 0.05$ for both), and the slopes of the linear regressions were negative (-0.0072 and -0.004, respectively).

The concentrations of all Co-PCB congeners were significantly correlated with body length ($r^2 > 0.55$, $P < 0.01$ for all; Fig. 9) and increased with increasing body length. The slopes of all linear regressions were positive, ranging from 0.024 to 25.7.

2.2.2.3. TEQ values

The TEQ values for PCDDs, PCDFs, non-*ortho* PCBs, and mono-*ortho* PCBs were 0.18-0.43, 0.084-0.29, 0.28-0.82, and 0.064-0.24 pg-TEQ/g ww, respectively, decreasing in the order non-*ortho* PCBs > PCDDs > PCDFs = mono-*ortho* PCBs (Fig. 6). The mean differences of TEQ values for non-*ortho* PCB and PCDDs were significant at the 0.05 level. Despite the fact that the concentrations of non-*ortho* PCBs were lower than those of mono-*ortho* PCBs, the TEQ values for non-*ortho* PCBs were higher than those of mono-*ortho* PCBs. TEQ values for the Co-PCBs ranged from 0.337 to 1.06 pg TEQ/g ww and accounted for 46.3%-63.7% of the total TEQ value for all the dioxins.

Although the TEQ values for total PCDDs and total PCDFs were not significantly correlated with body length (r^2=0.34 and 0.35, respectively; $P > 0.05$ for both) (Fig. 6), all of the linear regressions had positive slopes. The TEQ values for total non-*ortho* PCBs and total mono-*ortho* PCBs were significantly correlated with body length (r^2=0.82 and 0.64, respectively; $P < 0.01$ for both), and the non-*ortho* PCBs had the highest linear regression slope of all the dioxins (a=0.021).

2.2.3. Discussion

2.2.3.1. Bioaccumulation of PCDDs and the relationship between concentration and body length

Although the bioaccumulation rate for 1, 3, 6, 8-TeCDD is high, the elimination rate is also high (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). This might explain why 1, 3, 6, 8-TeCDD concentrations were not significantly correlated with body length (Fig. 7). And because 1, 3, 6, 8-TeCDD was the major PCDD congener in Miyagi Prefecture, total PCDD concentrations also showed no significant correlation with body length (Fig. 6).

The congener 2, 3, 7, 8-TeCDD shows high bioaccumulation rates and low elimination rates (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). Researchers believe that 2, 3, 7, 8-TeCDD bioaccumulates in fish more than 1, 3, 6, 8-TeCDD and OCDD (Allinson *et al.* 1993,

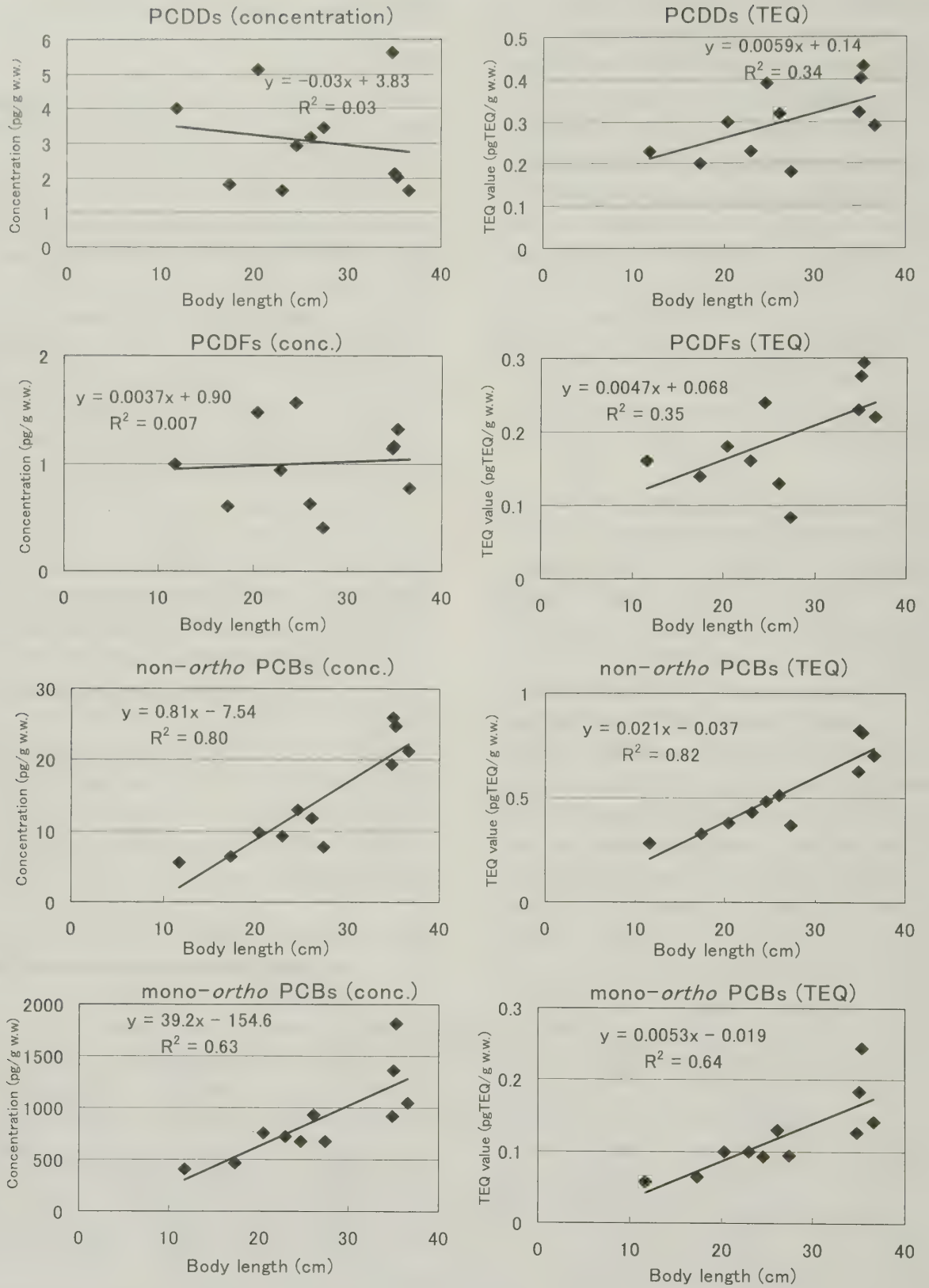


Fig. 6. Relationships between body length and concentration, and body length and TEQ value, for total PCDDs, total PCDFs, and total Co-PCBs.

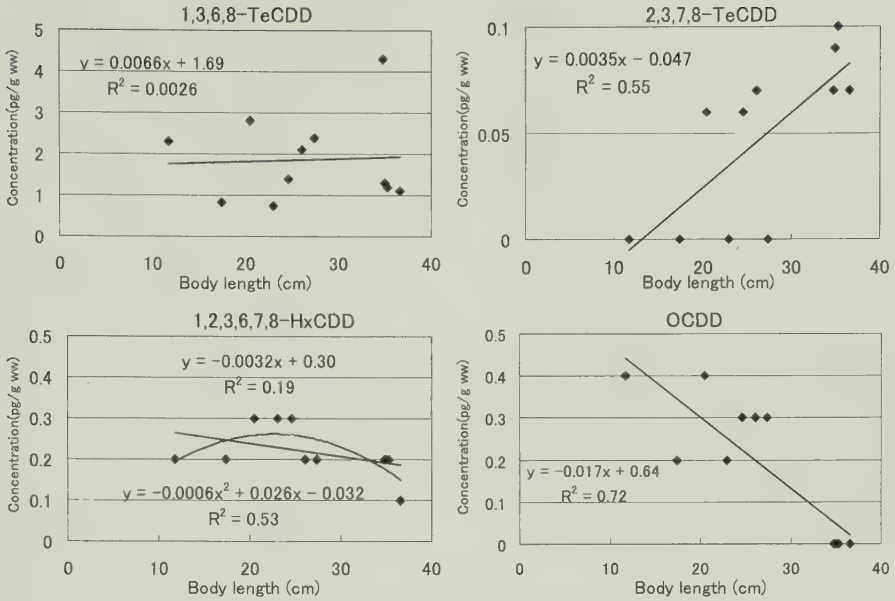


Fig. 7. Relationship between body length and concentration for major PCDD congeners.

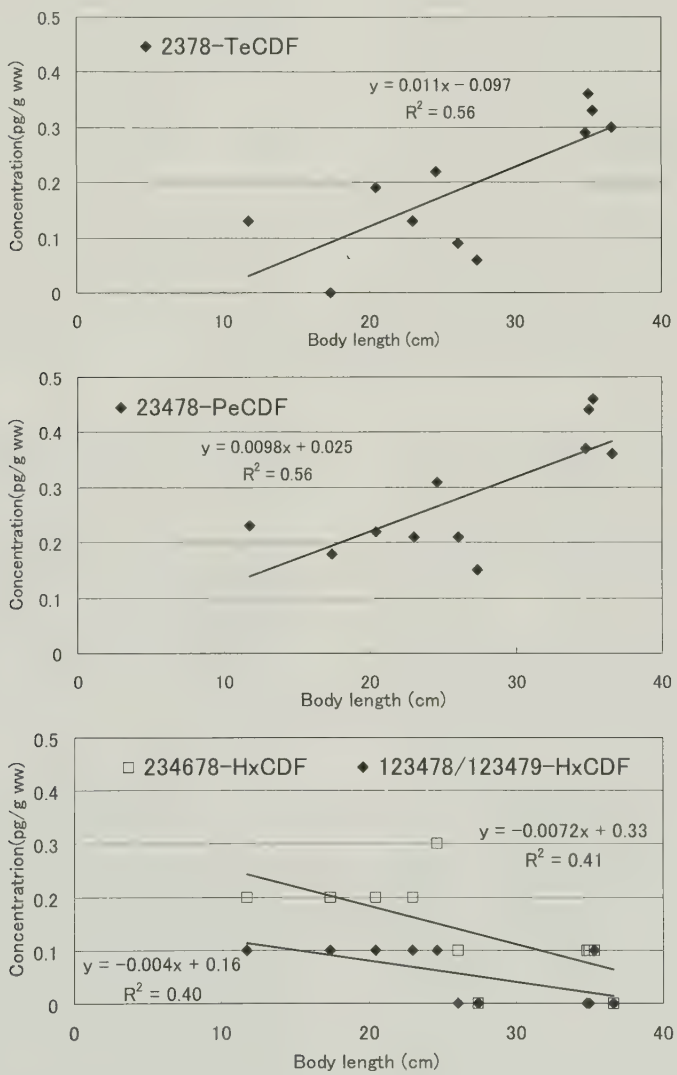


Fig. 8. Relationship between body length and concentration for major PCDF congeners.

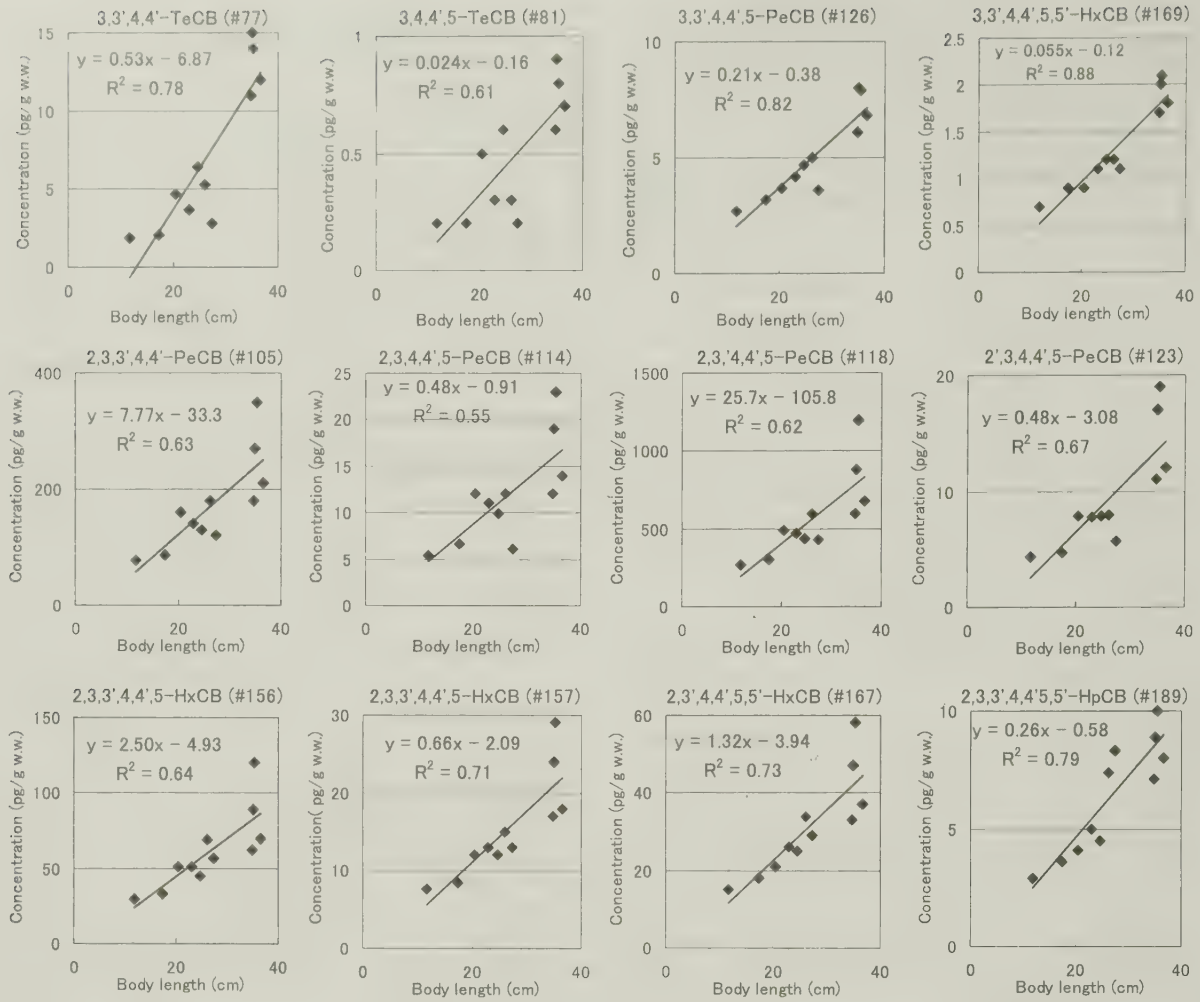


Fig. 9. Relationship between body length and concentration for individual Co-PCB.

Kim *et al.* 1996, Niimi 1996, Yamada 1997a). This may explain why the concentration of 2, 3, 7, 8-TeCDD was significantly correlated with body length, and why the slope of the linear regression was positive (Fig. 7).

OCDD, which belongs to the group of 1, 4- or 6, 9-substituted PCDD/F congeners, does not pass easily through the cell membrane, and consequently does not bioaccumulate in aquatic organisms as do the lower chlorinated 2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD is a large and highly chlorinated 2, 3, 7, 8-substituted PCDD/F. It may be that 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD, like OCDD, also does not pass easily through the cell membrane.

The accumulation of chemicals can vary at each growth stage of fish; the bioconcentration of the herbicide toxaphene in larvae and juveniles of killifish (Fundulus heteroclitus) is higher than that in adults, and the bioconcentration factor decreases as the fish grow (Schimmel *et al.* 1977). This may be related to the fact that growth rates decrease as the fish grow; for example, 21% growth per day (based on ww) for 30-mm fish compared with 1.5% per day for 280-mm fish in Japanese flounder (Yamashita *et al.* 2001).

The bioaccumulation of 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD and OCDD may also be higher in larvae and juveniles than in adult fish. The bioaccumulation of 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD and OCDD decreases with increasing size. As a result, the concentrations of 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD and OCDD were negatively correlated with body length.

The difference in the regression yielding the best fit —polynomial for 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD and linear for OCDD— may be related to the concentrations in

seawater, or may reflect the difference in congener structures. OCDD concentrations were higher than 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD in seawater. OCDD may show higher bioaccumulation in larvae and juveniles than 1, 2, 3, 6, 7,8-HxCDD.

2.2.3.2. Bioaccumulation of PCDFs and the relationship between concentration and body length

There is no consistent pattern to the slopes of the linear regressions for the relationships between the concentrations of PCDF congeners and flatfish body length (Fig. 8). There was no predominant PCDF congener. The total PCDF concentration was not significantly correlated with body length (Fig. 6).

The slopes of the linear regressions for 2, 3, 7, 8-TeCDF and 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF concentrations vs. body length were positive (Fig. 8), which suggests that these congeners bioaccumulate in Japanese flounder as fish grow. This result is similar to that obtained for 2, 3, 7, 8-TeCDD. In contrast, the slopes of the linear regressions for 2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF, and for 1, 2, 3, 4, 7, 8- and 1, 2, 3, 4, 7, 9-HxCDF combined, were negative. It is likely that these three congeners did not bioaccumulate as fish grew. This result is similar to that obtained for OCDD.

2.2.3.3. Bioaccumulation of Co-PCBs and the relationship between concentration and body length

The concentrations of all of the Co-PCB congeners were significantly correlated with body length (Fig. 9) and increased with increasing body length. The slopes of all linear regressions were positive. Therefore, the total Co-PCB concentration was also significantly correlated with body length and increased with increasing body length.

The uptake rate and concentration of PCBs in fish are known to be higher than those of PCDD/Fs (Opperhuizen and Sijm 1990, Niimi 1996). The concentration of total Co-PCBs in Japanese flounder was also higher than total PCDD/Fs concentrations despite the fact that the total Co-PCB concentrations in seawater and sediment were lower than the total PCDD/F concentrations (Chapter 2.1). In addition, the dietary absorption efficiencies of Co-PCB congeners are known to be similar (Niimi 1996). In this study, the slopes of the linear regressions for the relationship between Co-PCB concentration and body length (that is, the bioaccumulation properties of Co-PCBs) were also similar (Fig. 9). All of the Co-PCB congeners showed high bioaccumulation, so it is possible that the Co-PCB congeners in Japanese flounder bioaccumulated during a long exposure. This long exposure may explain why the concentrations were significantly correlated with body length, and why the slopes of the linear regression were positive (Fig. 9).

2.2.3.4. TEQ values in Japanese flounder

The TEQ values from Co-PCBs made up 46.3%–63.7% of the total TEQ values for all dioxins in Japanese flounder (Table 1, Fig. 6). Despite the fact that the concentration of non-*ortho* PCBs in Japanese flounder was lower than that of mono-*ortho* PCBs, the TEQ values for non-*ortho* PCBs were higher than those for mono-*ortho* PCBs (Fig. 6). The TEQ values for non-*ortho* PCBs showed a greater increase with increasing body length than did the values for PCDDs, PCDFs, and mono-*ortho* PCBs. For risk assessment, these results indicate that non-*ortho* PCBs are the most important dioxins in Japanese flounder in Sendai Bay.

Chapter 3. Historical trend of dioxins in sediment cores from Sendai Bay

Chemicals emitted from the terrestrial environment are carried to the marine environment both by rivers and via the atmosphere (Takada 1997). Chemicals reaching the sea are dissolved in seawater or adsorbed onto suspended solids. Those solids then sink to the sea bottom and accumulate in the bottom sediments. Therefore, sediments have been monitored to investigate pollution by heavy metals (Matsumoto and Yokota 1978), polycyclic aromatic hydrocarbons (Handa and Ohta 1983) and other chemicals (Yamashita *et al.* 2000), from the perspective of risk assessment. In addition, sedimentation rates of suspended solids are calculated so that chemical fluxes in the marine environment can be estimated (Matsumoto 1983, Tanimoto and Hoshika 1994, Kanai *et al.* 1997).

In this chapter, the density, ignition loss, water content, and ^{210}Pb and ^{137}Cs concentrations in a sediment core collected in Sendai Bay were determined, and the sedimentation rate of the suspended solids was calculated. The vertical change in concentrations of dioxin congeners in sediment core samples also were determined by HRGC/HRMS. The amounts of dioxin congeners released annually from PCP, CNP (Japan Plant Protection Association 1963–1995), and PCB products (Tatsukawa 1972) were obtained from published data. Comparing these data allowed us to investigate changes in dioxin fluxes from the terrestrial areas of Miyagi Prefecture to Sendai Bay over time.

3.1. Materials and Methods

3.1.1. Sampling

Sediment cores approximately 80 cm long were collected with sediment core samplers (ϕ 20 cm × 100 cm) from two sampling sites in Sendai Bay: off Naruse (lat 38°20′N, long 141°13′E) and off Ishinomaki (lat 38°21′N, long 141°23′E) on 19 September 2002 (Fig. 10). Two sediment cores that were less disturbed by organisms and showed uniform deposition were selected for the analysis from the total of five sediment cores collected. In the laboratory, the cores were sliced into 2-cm-long segments. Samples were refrigerated or frozen until use.

3.1.2. Analysis of density, ignition loss, and water content of sediment core samples

Density, ignition loss, and water content of the sediments were determined according to methods described by the Japan Industrial Standard (Japan Industrial Standard Committee 1999a, 1999b, 2000). Briefly, the methods are as follows.

To measure density, refrigerated samples were air-dried overnight, and then the air-dried samples were ground with a mortar and pestle. The sediment powder was transferred to a pycnometer. Distilled water was added until the pycnometer was full and the pycnometer was weighed. The density of the sediment was calculated.

To measure water content, refrigerated samples were weighed and then dried overnight in a dryer at 110 °C. After the dried samples had cooled in a desiccator to room temperature, they were weighed again, and the original water content of each sample was calculated from the weight difference.

To measure ignition loss, refrigerated samples were placed in a crucible and dried overnight in a dryer at 110 °C. The dried samples were weighed, and then the samples were combusted at 800 °C in an electric furnace for 6 h and reweighed. Ignition

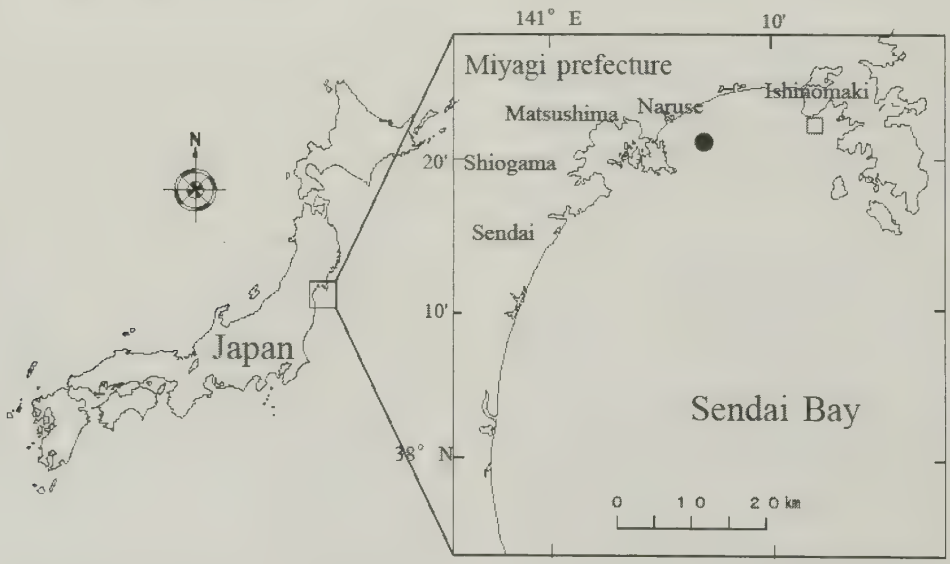


Fig. 10. Location of the sampling sites in Sendai Bay. ●: Sampling site off Naruse; □: sampling site off Ishinomaki.

loss in the sediment sample was calculated as the weight difference.

3.1.3. Analysis of ^{210}Pb and ^{137}Cs concentrations

^{210}Pb and ^{137}Cs activities in samples were determined by the methods of Matsumoto (1986). Briefly, refrigerated samples were weighed on an analytical balance, air-dried overnight, and ground with a mortar and pestle. The sediment powder was transferred to a crucible and then combusted in an electric furnace.

Lead from the combusted sediment samples was dissolved in nitric acid in an Erlenmeyer flask. The lead solutions were filtered, and lead sulfate was extracted from the filtered lead solution by electrodeposition. The extracted lead sulfate was allowed to stand for 40 d, and then the β-emitter (^{210}Bi, 1.1 MeV) in lead sulfate was measured for 24 h with a low-background gas-flow counter (β-spectrometry; OXFORD, Lb4100-W). ^{210}Pb concentrations were corrected by using the count of the β-emitter standard (712 Bq, Japan Radioisotope Association) for ^{210}Pb.

In addition to ^{210}Pb derived from ^{222}Rn in air, ^{210}Pb is also found in sediment (supported ^{210}Pb). Supported (background) ^{210}Pb is a decay product of the ^{226}Ra found in water and sediment not including ^{210}Pb in the suspended sediments that settles from the sea surface to the sea floor. Accordingly, excess ^{210}Pb (^{210}Pb$_{ex}$) was calculated as [total ^{210}Pb] -[supported ^{210}Pb]. Here, background ^{210}Pb concentrations (supported ^{210}Pb) were calculated by averaging the ^{210}Pb concentrations in sediments from core depths of 68–70, 58–60, and 48–50 cm.

The cumulative sedimentation rate by weight was calculated as:

$$Sr = (0.693/22.2)/|S| \quad (3.1)$$

where S is the slope of the line describing the relationship between log (^{210}Pb$_{ex}$) and cumulative weight (−0.0993; Fig. 11), 0.693 is the disintegration coefficient of ^{210}Pb, and 22.2 y is the half-life of ^{210}Pb.

^{137}Cs (662 keV) in air-dried sediments was also measured with a low-background gas-flow counter (γ-spectrometry; EG&G Ortec, GMX-25190) and corrected by the count of the γ-emitter standard (mixture of ^{109}Cd, ^{57}Co, ^{139}Ce, ^{51}Cr, ^{85}Sr, ^{137}Cs, ^{54}Mn, ^{88}Y, ^{60}Co; Japan Radioisotope Association) for ^{137}Cs.

3.1.4. Analysis of dioxins and TEQs

The procedures for chemical analysis of dioxins and calculation of TEQs are described in Chapter 2.1.

3.2. Results

3.2.1. Sediment accumulation histories as determined from 210Pb and 137Cs activities

^{210}Pb$_{ex}$ values from 1 and 3 cm depth in the core collected off Naruse (hereafter, Naruse sample) were lower than those in layers below 5 cm (Fig. 11). This surface layer was interpreted as being mixed. Except for in the surface layer, ^{210}Pb$_{ex}$ values decreased with depth and were significantly correlated with cumulative weight ($r^2 = 0.90$, $P < 0.01$). The sedimentation rate was calculated from the relationship between cumulative weight and ^{210}Pb$_{ex}$ (Eq. 3.1) as 0.314 g cm^{-2} y^{-1}. In the core collected off Ishinomaki (hereafter, Ishinomaki sample), ^{210}Pb$_{ex}$ values decreased over the depth interval from 2 to 16 cm and were significantly correlated with cumulative weight ($r^2 = 0.91$, $P < 0.01$; Fig. 12). Therefore, the layer from 2 to 16 cm depth was interpreted as not mixed. The sedimentation rate in this layer was calculated from the relationship between cumulative weight and ^{210}Pb$_{ex}$ as 0.112 g cm^{-2} y^{-1}.

^{137}Cs activity was detected above 22–24 cm depth in the Naruse sample (Fig. 13), and above 10–12 cm depth in the Ishinomaki sample (Fig. 14). These earliest records of ^{137}Cs activity in these cores are attributed to the detonation of atomic bombs (Hiroshima and Nagasaki in 1945) and to early nuclear testing (e.g., at Bikini atoll in 1954), and so the time of deposition for these sediments was placed from the mid-1940s to the early 1950s. Two peaks in ^{137}Cs activity were observed in the Naruse sample at 6–8 and 14–16 cm depth, the activity was higher than 10 Bq/kg (Fig. 13). Two peaks in ^{137}Cs activity were also observed in the Ishinomaki sample, at 2–4 cm depth and at 6–8 cm depth, with activities above 10 Bq/kg from 2 to 8 cm depth (Fig. 14). The peaks in ^{137}Cs activity at 14–18 cm depth in the Naruse sample and 6–8 cm depth in the Ishinomaki sample were attributed to atmospheric nuclear testing carried out during the 1960s and

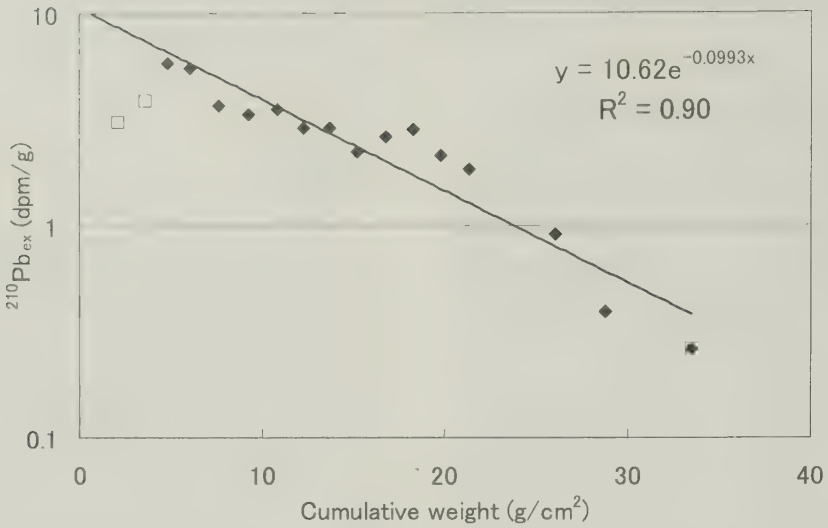


Fig. 11. Relationship between cumulative weight and $^{210}Pb_{ex}$ in the sediment core collected off Naruse in Sendai Bay. $^{210}Pb_{ex}$ was calculated as the ^{210}Pb activity per gram in each 2-cm sediment sample less the average ^{210}Pb activity (0.42 ± 0.009 dpm/g) in sediments at depths of 48–50, 58–60, and 68–70 cm (used as the background or supported activity). ◆, Data points used in the calculation; □, data points for samples from 2–4 and 4–6 cm depth not used in the calculation.

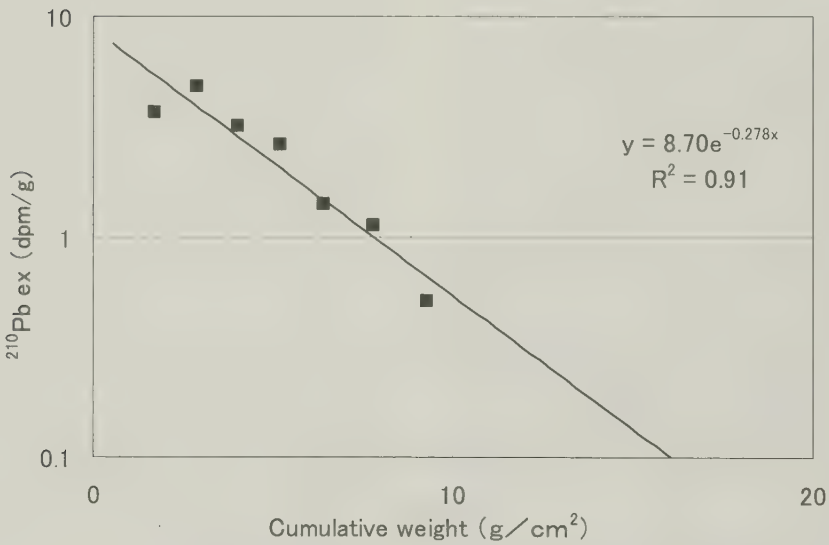


Fig. 12. Relationship between cumulative weight and $^{210}Pb_{ex}$ in the sediment core collected off Ishinomaki in Sendai Bay. $^{210}Pb_{ex}$ was calculated as the ^{210}Pb activity per gram in each 2-cm sediment sample less the average ^{210}Pb activity (0.63 ± 0.017 dpm/g) in sediments at depths of 16–30, 34–36, 38–40, 44–46, 48–50, 62–64, and 76–78 cm (used as the background or supported activity).

thus dated those sediments to approximately that time period (Figs. 13 and 14). The peaks at 6–8 cm depth in the Naruse sample and 2–4 cm depth in the Ishinomaki sample were thought to mark the accident at the Chernobyl nuclear power plant in 1986, so the deposition period for these sediments was set to the mid-1980s (Figs. 13 and 14).

These tentative dates were verified by using the sedimentation rates determined from ^{210}Pb activities. Assuming that the sediments at 6–8 cm depth in the Naruse sample were deposited in 1987, then the time elapsed since deposition can be estimated from the cumulative sediment weight (4.83 g cm^{-2}; Fig. 11) and the ^{210}Pb-based sedimentation rate calculated for this site (0.314 g cm^{-2} y^{-1}) as 15.4 y (4.83/0.314). Likewise, the time elapsed since deposition of the sediments at 22–24 cm depth is calculated from the cumulative weight (16.81 g cm^{-2}; Fig. 11) as 53.5 y (16.81/0.314), or 38 years earlier (53.5 – 15.4) than the sediments at 6–8 cm depth (1987 – 38 = 1949).

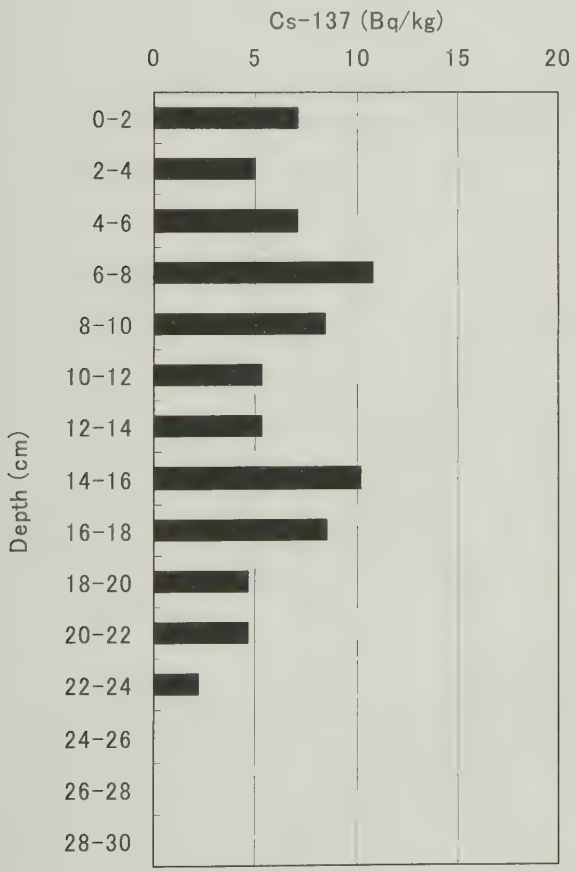


Fig. 13. Vertical distribution of ^{137}Cs activity in the sediment core collected off Naruse in Sendai Bay.

Assuming that the sediments at 2–4 cm depth in the Ishinomaki sample were deposited in 1987, then the time since deposition can be similarly calculated from the cumulative weight (1.69 g cm^{-2}; Fig. 12) and the ^{210}Pb-based sedimentation rate for this site (0.112 g cm^{-2} y^{-1}) as 15.1 y (1.69/0.112). The time since deposition of the sediments at 10–12 cm depth can be likewise calculated from the cumulative weight (6.41 g cm^{-2}; Fig. 12) as 57.2 y (6.41/0.112), or 42 years earlier (57.2 – 15.1) than 1987, or 1945. Thus, the periods of deposition determined from the ^{137}Cs activity peaks agree with those calculated by using the sedimentation rates determined from ^{210}Pb activities.

3.2.2. Composition and historical trends of dioxins in sediment cores

In sediments from 0 to 30 cm depth (deposited from the mid-1930s to 2002) in the Naruse sample and from 0 to 4 cm depth (deposited from the early 1980s to 2002) in the Ishinomaki sample, total PCDDs accounted for over 80% of the total dioxin concentrations (Figs. 15 and 16; Table 2). The dominant PCDD congeners were 1, 3, 6, 8-TeCDD, 1, 3, 7, 9-TeCDD, and OCDD, which together accounted for 79%–84% of the total PCDD concentrations; PCDFs accounted for 3%–7% of the

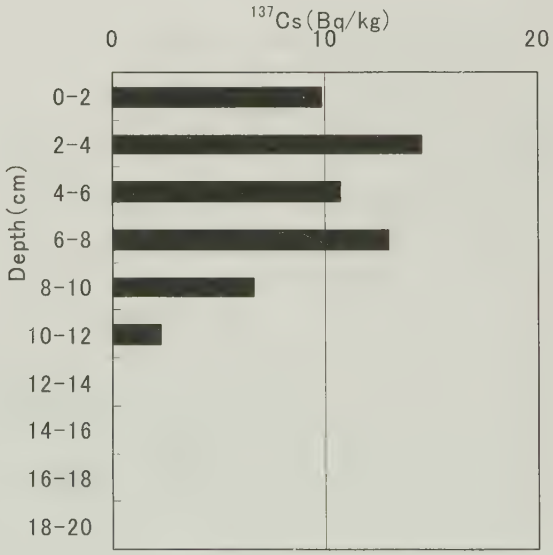


Fig. 14. Vertical distribution of ^{137}Cs activity in the sediment core collected off Ishinomaki in Sendai Bay.

total PCDD + PCDF concentrations (Fig. 15, Table 2). Although Co-PCBs accounted for less than 10% of dioxins, PCB #118, the most abundant Co-PCB congener, accounted for 52%–62% of the total Co-PCB concentration (Fig. 16, Table 2). PCB #105, the next most abundant Co-PCB congener, accounted for 19%–23% of the total Co-PCB concentration. PCB #81 and PCB #169 concentrations were below the detection limit.

In the Naruse sample, dioxin concentrations in sediments deposited in the mid-1930s and in the mid-1980s were 413 and 3870 pg/g dw, respectively

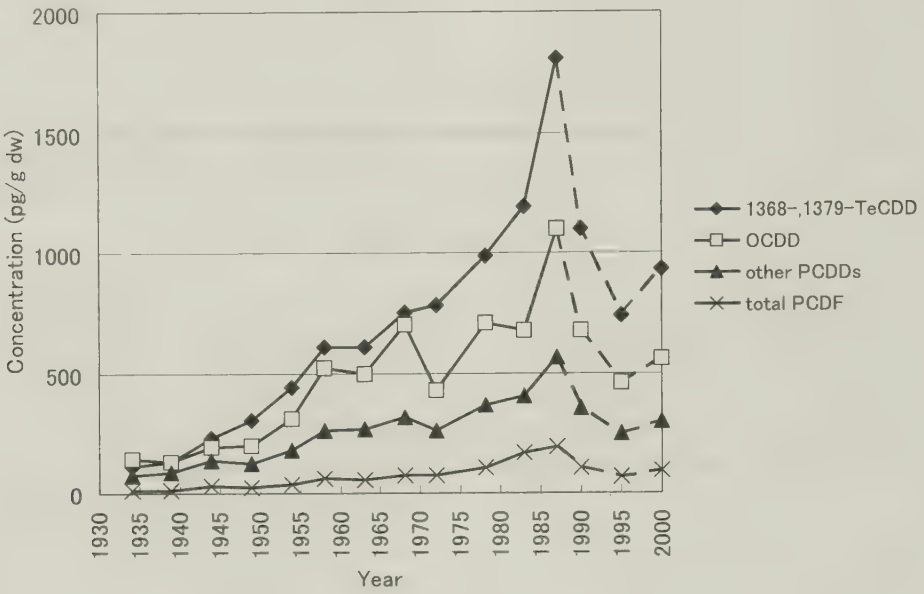


Fig. 15. Changes in PCDD/F concentrations with time in the sediment core collected off Naruse in Sendai Bay. The sediment core depth (cm) corresponding to each sediment deposition year is shown in Table 3.

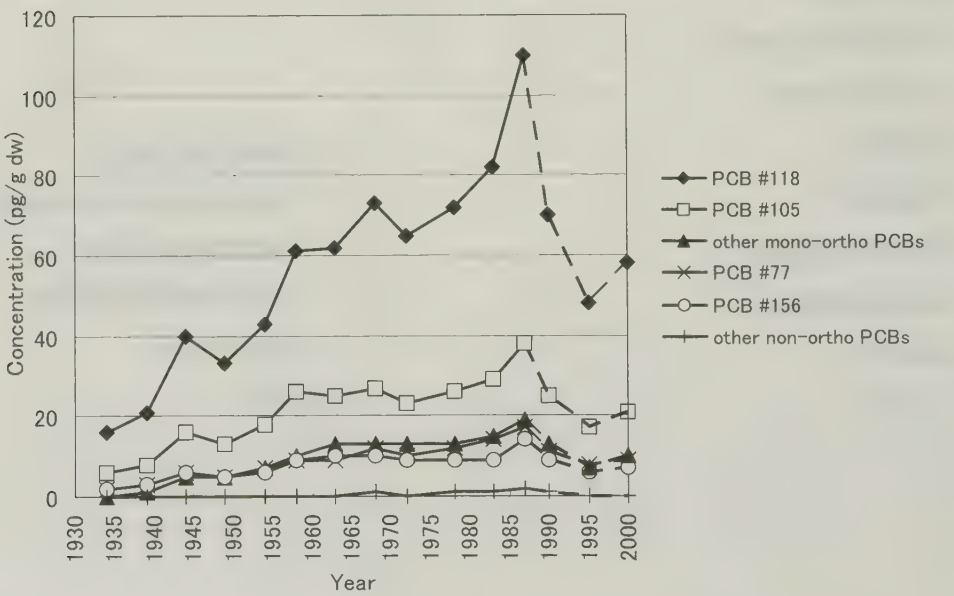


Fig. 16. Changes in Co-PCB concentrations with time in the sediment core collected off Naruse in Sendai Bay. The sediment core depth (cm) corresponding to each sediment deposition year is shown in Table 3.

(Figs. 15 and 16). Dioxin concentrations increased from the mid-1930s and reached a maximum in the mid-1980s. 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD concentrations also increased from the mid-1930s and reached a maximum in the mid-1980s. The concentration in sediments deposited in the mid-1980s (1800 pg/g dw) was more than 10 times that in sediments deposited in the mid-1930s (110 pg/g dw). OCDD showed a similar trend: the concentration in sediments deposited in the mid-1980s (1100 pg/g dw) was about 8 times that in sediments deposited in the mid-1930s (140 pg/g dw). The total concentrations of other PCDD (80–570 pg/g dw), PCDF (10–190 pg/g dw), and Co-PCB (30–200 pg/g dw) congeners, although lower than those of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD or OCDD, showed similar trends.

Although Naruse sample from the surface layer (<5 cm depth) was interpreted as being mixed (Fig. 11), dioxin concentrations in sediments tended to decrease from the late 1980s to the present (Figs.15 and 16). In the Ishinomaki sample, dioxin concentrations in sediments also decreased from 1847 pg/g dw in sediments deposited in the mid-1980s, to 1564 pg/g dw in sediments deposited in the 2000s (Table 2). Concentrations of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD, OCDD, and other PCDDs, PCDFs, and Co-PCBs showed similar trends, decreasing from the late 1980s to the present.

3.2.3. History of dioxin sources

The history of shipments of CNP and PCP products to Miyagi Prefecture and the amounts of PCBs used in Japan are shown in Figures 17 and 18. Shipments of CNP and PCP to Miyagi Prefecture were highest in 1975, when 4700 t of CNP products were shipped, and in 1970, when 3100 t of PCP products were shipped. In 1970, the amount of PCBs used in Japan reached a maximum of 11,100 t.

3.2.4. TEQ values

TEQ values of dioxins in the sediment core from Sendai Bay (Naruse sample) ranged from 1.05 to 5.95 pg-TEQ/g (Table 3). TEQ values of dioxins increased after the late 1930s, reaching a maximum in the mid-1980s. TEQ values of dioxins then decreased from the late 1980s to the present (Tables 2 and 3).

3.3. Discussion

3.3.1. Sedimentation rate in Sendai Bay compared with other areas of Japan

The sedimentation rates off Ishinomaki and Naruse in Sendai Bay were 0.112 g cm^{-2} y^{1} and 0.314 g cm^{-2} y^{-1}, respectively. The sedimentation rate off Ishinomaki was approximately one-third that off Naruse. Thus, the sedimentation rate in Sendai Bay varies with location. Various sedimentation rates have been reported for different parts of Japan by other studies (all values are expressed as g cm^{-2} y^{-1}; average ± S.D.): 0.116 ± 0.063 (n=5), Funka Bay near Hokkaido; 0.26 ± 0.12 (n=3), Sakai-Izumi Port; 0.22 ± 0.17 (n=3), Yokohama Port; 0.335 (n=1), Nagoya Port; 0.341 (n=1), Nagasaki Port; and 0.552 (n=2), Osaka Port (Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Government of Japan 2001); 0.2 ± 0.091 (n=6), Harima-Nada (Hoshika *et al.* 1983); and 0.27 ± 0.11 (n=7), Tokyo Bay, (Foundation for Promoting Personal Mobility and Ecological Transportation 2001). Excluding values from Sendai Bay, the average sedimentation rate is 0.24 g cm^{2} y^{1}.

The sedimentation rate off Naruse was between those reported for Tokyo Bay and Nagoya Port, and higher than this average. The sedimentation rate off Ishinomaki was lower than this average and similar to that reported for Funka Bay.

3.3.2. History of dioxin sources in Sendai Bay

The composition of the dioxin congeners in sediments of Sendai Bay did not notably change during the period from the mid-1930s to the 2000s (Figs. 15 and 16, Table 2). This result suggests that the composition of dioxin congeners in the major sources discharged into Sendai Bay from Miyagi Prefecture has been similar since the 1930s.

1, 3, 6, 8-TeCDD and 1, 3, 7, 9-TeCDD were derived from impurities in CNP, and OCDD from impurities in PCP, from the 1960s to the 2000s (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003). Pesticides such as CNP and PCP were shipped mainly to agricultural areas rather than to urban areas. In particular, shipments of CNP products to Miyagi Prefecture, the so-called granary of Japan, were the largest in Japan in 1971, 1975, 1976, 1979, 1981, and

Table 2. Dioxin concentrations in the sediment core sampled from off Ishinomali in Sendai Bay.

	2–4cm 1987 (1992–1981)		0–2cm 1997 (2002–1992)			2–4cm 1987 (1992–1981)		0–2cm 1997 (2002–1992)	
	conc.	conc. */year	conc.	conc. */year		conc.	conc. */year	conc.	conc. */year
1368-TeCDD	420	39.3	330	34.0	12368/13478-PeCDF	1	0.1	N.D.	–
1379-TeCDD	210	19.6	150	15.5	12478-PeCDF	1	0.1	1	0.1
1378-TeCDD	1	0.1	1	0.1	12479/13467-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
1369/1247/1248-TeCDD	6	0.6	4	0.4	12467-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
1268-TeCDD	2	0.2	1	0.1	14678/12347-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
1237-TeCDD	1	0.1	N.D.	–	13469-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
1234/1246/1249/1238-TeCDD	4	0.4	4	0.4	12348/12378-PeCDF	1	0.1	1	0.1
1236/1279-TeCDD	2	0.2	2	0.2	12346-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
total TeCDDs	646	60.4	492	50.7	12379-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
12468/12479-PeCDD	21	2.0	17	1.8	12367-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
12368-PeCDD	76	7.1	59	6.1	12469/12678-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
12478-PeCDD	1	0.1	N.D.	–	12679-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
12379-PeCDD	27	2.5	23	2.4	12369-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
12469/12347-PeCDD	2	0.2	2	0.2	23468-PeCDF	5	0.5	4	0.4
12378-PeCDD	1	0.1	N.D.	–	12349-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
total PeCDDs	128	12.0	101	10.4	12489-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
123468/124679/124689-HxCDD	29	2.7	25	2.6	23478-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
123679/123689-HxCDD	15	1.4	13	1.3	12389-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–
123678-HxCDD	3	0.3	3	0.3	23467-PeCDF	1	0.1	1	0.1
123469-HxCDD	N.D.	–	N.D.	–	total PeCDFs	13	1.2	9	0.9
123789-HxCDD	4	0.4	3	0.3	123468-HxCDF	3	0.3	2	0.2
123467-HxCDD	N.D.	–	N.D.	–	134678/134679-HxCDF	2	0.2	N.D.	–
total HxCDDs	51	4.8	44	4.5	124678-HxCDF	5	0.5	4	0.4
1234679-HpCDD	79	7.4	69	7.1	124679-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
1234678-HpCDD	49	4.6	48	4.9	123478/123479-HxCDF	2	0.2	3	0.3
total HpCDDs	128	12.0	117	12.1	123678-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
OCDD	600	56.1	590	60.8	124689-HxCDF	3	0.3	2	0.2
total PCDDs	1553	145.1	1344	138.6	123467-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
1368-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	123679-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
1378/1379-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	123469/123689-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
1347-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	123789-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
1468-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	123489-HxCDF	N.D.	–	N.D.	–
1247/1367-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	234678-HxCDF	2	0.2	N.D.	–
1348-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total HxCDFs	17	1.6	11	1.1
1346/1248-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	1234678-HpCDF	11	1.0	10	1.0
1246/1268-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	1234679-HpCDF	N.D.	–	N.D.	–
1478/1369/1237-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	1234689-HpCDF	14	1.3	12	1.2
1678/1234-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	1234789-HpCDF	N.D.	–	N.D.	–
2468/1238/1467/1236-TeCDF	15	1.4	11	1.1	TOTAL HpCDF	25	2.3	22	2.3
1349-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	OCDF	20	1.9	19	2.0
1278-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total PCDFs	90	8.4	72	7.4
1267/1279-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total PCDD/Fs	1643	153.6	1416	146.0
1469-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	3,3',4,4'-TeCB(#77)	15	1.4	12	1.2
1249/2368-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	3,4,4',5-TeCB(#81)	N.D.	–	N.D.	–
2467-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	3,3',4,4',5-PeCB(#126)	1	0.1	1	0.1
1239-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	N.D.	–	N.D.	–
2347-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total non-*ortho* PCBs	16	1.5	13	1.3
1269-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	40	3.7	27	2.8
2378-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2,3,4,4',5-PeCB(#114)	2	0.2	1	0.1
2348-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2,3',4,4',5-PeCB(#118)	110	10.3	81	8.4
2346-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2',3,4,4',5-PeCB(#123)	5	0.5	6	0.6
2367-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	17	1.6	10	1.0
3467-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	3	0.3	3	0.3
1289-TeCDF	N.D.	–	N.D.	–	2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	7	0.7	5	0.5
total TeCDFs	15	1.4	11	1.1	2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	4	0.4	2	0.2
13468-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total mono-*ortho* PCBs	188	17.6	135	13.9
12468-PeCDF	4	0.4	2	0.2	total Co-PCBs	204	19.1	148	15.3
13678-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total dioxins	1847	172.6	1564	161.2
13479-PeCDF	N.D.	–	N.D.	–	total TEQ	2.94	0.3	1.711	0.2

*: The average annual dioxin concentrations (conc./year) were calculated by dividing dioxins cancentration (conc.) by period of age of each layer in Table 1. The values of conc./year were rounded off to one decimal place.

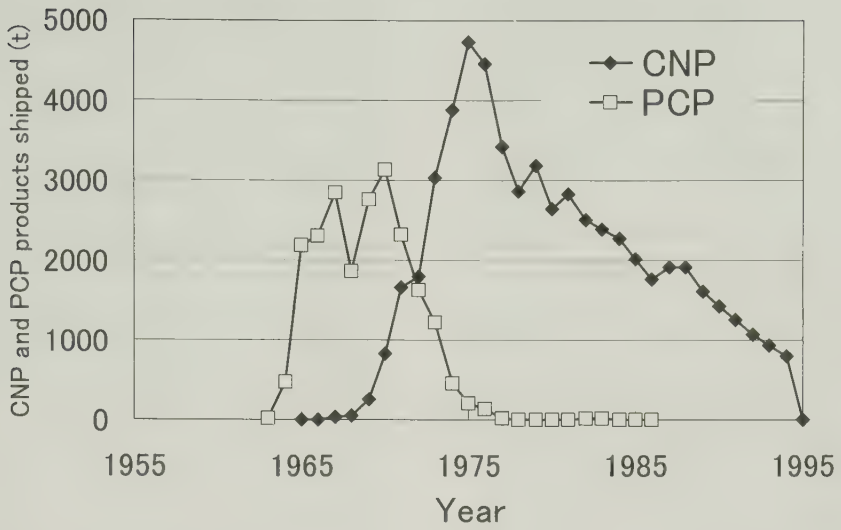


Fig. 17. Amounts of CNP and PCP products (t) shipped to Miyagi Prefecture 1963–1995, calculated from data in the Agrochemical Handbook (Japan Plant Protection Association 1963–1995). Because the Agrochemical Handbook was first published in 1963, information on shipments of PCP products to Miyagi Prefecture before that date is not available.

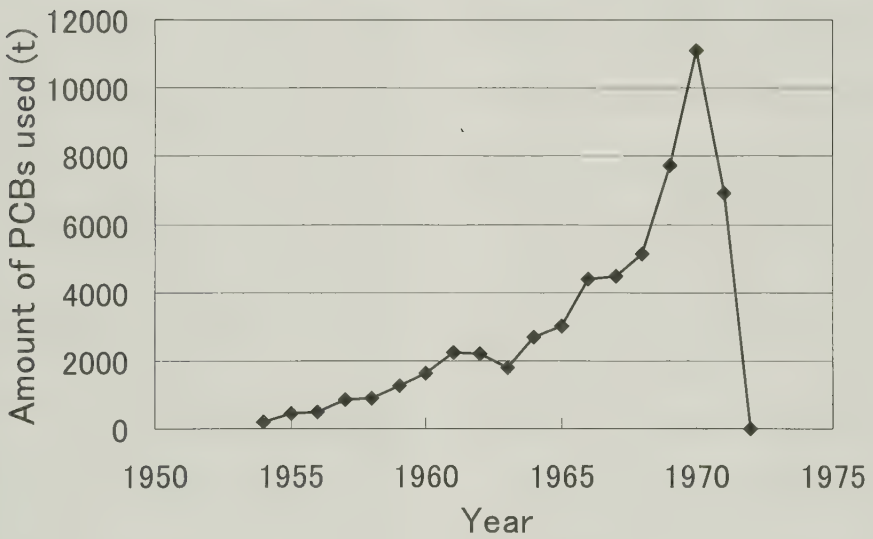


Fig. 18. Quantities of PCBs (t) used in Japan, based on data published by Tatsukawa (1972)

Table 3. TEQ concentirations accoding to depth in the sediment core from off Naruse.

depth (cm)	28–30	26–28	24–26	22–24	20–22	18–20	16–18	14–16	12–14	10–12	8–10	6–8	4–6	2–4	0–2
age (year)	1934	1939	1944	1949	1954	1958	1963	1968	1972	1978	1983	1987	1990	1995	2000
TEQ of PCDDs	0.73	0.75	0.98	1.07	1.36	1.80	1.80	2.04	1.80	2.40	2.94	3.82	2.39	1.70	2.07
TEQ of PCDFs	0.28	0.37	0.54	0.49	0.62	0.81	0.70	0.86	0.99	1.25	2.00	1.93	1.29	0.84	1.04
TEQ of Co-PCBs	0.04	0.05	0.07	0.06	0.07	0.10	0.10	0.15	0.10	0.13	0.15	0.20	0.13	0.09	0.10
TEQ of dioxins	1.05	1.17	1.59	1.62	2.06	2.71	2.60	3.05	2.90	3.78	5.09	5.95	3.81	2.64	3.20

1982 and from 1984 to 1989 (Japan Plant Protection Association 1971, 1975, 1976, 1979, 1981, 1982, 1984–1989). Although the total amount of CNP products used in Japan was less than the total of PCP products (Yao *et al.* 2002), the total shipments of CNP products to Miyagi Prefecture was greater than that of PCP products (Fig. 17). Thus, TeCDDs have been the predominant homologues in Sendai Bay since the 1960s. Although other studies of dioxin concentrations in sediments have found PCDD concentrations to be higher than PCDF or Co-PCB concentrations, most studies have reported OCDD, rather than TeCDDs, to be the predominant dioxin congener in Japan (Sakai *et al.* 1999, Kubota *et al.* 2002, Yao *et al.* 2002, Masunaga *et al.* 2001b). The sediment cores collected in Sendai Bay were characterized by the dominance of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD, with a concentration higher than that of OCDD for a long period. Therefore, the composition of PCDDs in the sediments of Sendai Bay differed from the compositions in other parts of Japan, such as the offshore region of the Yodo River, the Uwa Sea, Tokyo Bay, and Lake Shinji (Sakai *et al.* 1999, Kubota *et al.* 2002, Yao *et al.* 2002, Masunaga *et al.* 2001b).

Major sources of Co-PCBs are thought to be PCBs in electrical insulating oil (Kannan *et al.* 1987, Takasuga *et al.* 1995) and in fly ash and exhaust gases from incinerators (Czuczwa and Hites 1984, Sakai *et al.* 1993). In Kanechlor, a PCB mixture used in Japan, PCB #118 and PCB #105 are the major congeners (Takasuga *et al.* 1995). Thus, the dominant Co-PCB congeners in sediments from Sendai Bay corresponded to those of this PCB product (Fig. 16, Table 2). PCB #169, which is derived from combustion (Yao *et al.* 2002), was below the detection limit in sediments from Sendai Bay. From these facts, the major source of Co-PCBs in Sendai Bay since the mid-1950s is inferred to be PCB products; combustion was much less important.

Because there are no suitable data concerning the shipment of chlorinated pesticides, accurately determining the sources of dioxins for the 1930s to the 1960s is difficult. However, there are several reports concerning possible sources of dioxins before the 1960s. Coal combustion has been a major energy source since the 19th century (Czuczwa and Hites 1984). An average of 35 million tons of coal was produced each year in Japan from 1930 to 1937 (Yao *et al.* 2002). In the 1940s, the production of chlorinated organic compounds, which are used in a variety of products, including building supplies, herbicides, and packaging, increased substantially (Czuczwa and Hites 1984). Also, chlorinated organic compounds such as DDT were registered and used as agricultural chemicals in Japan during the 1940s (Agricultural Chemicals Inspection Station 2003). Therefore, from the 1930s to the 1960s, major dioxin sources in Miyagi Prefecture may have been coal or agricultural chemicals.

3.3.3. Dioxin concentrations in sediments in Sendai Bay compared with those in other areas of Japan

Dioxin concentrations increased in the cores from the mid-1930s and reached a maximum in the mid-1980s (Figs. 15 and 16). Dioxin concentrations in the sediments then decreased from the late 1980s to the present (Table 2).

For comparison, the maximum PCDD/F concentrations in sediments in the offshore region of the Yodo River were deposited in the early 1990s (Sakai *et al.* 1999). In Tokyo Bay, the maximum concentrations of OCDD, TeCDDs, and most Co-PCBs deposited in sediments were reported from the late 1960s to late 1970s (Yao *et al.* 2002). In Lake Shinji, the maximum concentration of OCDD, which was the predominant congener among PCDD/Fs in sediments, was reported in the early 1970s, and that of total non-*ortho* PCBs in the late 1960s (Masunaga *et al.* 2001b). In southern Lake Biwa, the maximum concentration of PCDD/Fs in sediments was deposited in the early 1970s (Sakai *et al.* 1999). Although the period of maximum use of CNP and PCP products did not vary much in different parts of Japan (Figs. 17 and 18; Yao *et al.* 2002), maximum dioxin concentrations in sediments were observed later in Miyagi Prefecture than in other parts of Japan.

3.3.4. Relationship between maximum dioxin concentrations in the sediments and the time of maximum use of CNP, PCP, and PCB products

The time of deposition of maximum concentrations of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD, OCDD, and Co-PCBs (all in mid-1980s' sediments) (Figs. 15–18, Table 2) did not correspond to the peak period for shipments of CNP (1975) or PCP (1970) products or to the period of maximum PCB use (1970). In other areas of Japan, the maximum concentration of major dioxin congeners in sediments in Lake Shinji (Masunaga *et al.* 2001b), in Tokyo Bay at 35° 33′ N and 139° 55′ E (Yao *et al.* 2002), and in Lake Biwa-South (Sakai *et al.* 1999), occurred before 1980. Although the timing of the peak period of CNP and PCP shipments to each prefecture differed slightly, the maximum concentrations of TeCDDs, OCDD, and Co-PCBs in these sediments tended to correspond to the peak period of shipments of CNP and PCP products and of PCB use. In contrast, the maximum concentrations of major dioxin congeners in sediments in Tokyo Bay at 35° 35′ N and 139° 55′ E (Yamashita *et al.* 2000), in Lake Biwa-North, and in the Yodo River offshore region (Sakai *et al.* 1999) occurred after 1980, as in Sendai Bay.

The lack of correspondence between maximum concentrations of major dioxin congeners in the sediments in Sendai Bay and the time of maximum use of CNP, PCP, and PCB products may be due to a smaller outflow of dioxins from land to bay, in comparison with total amount of CNP products used in Miyagi Prefecture. The use of CNP and PCP products was extremely high in Miyagi Prefecture compared with that in other Japanese prefectures (Japan Plant Protection Association 1971, 1975, 1976, 1979, 1981, 1982, 1984–1989); shipments of CNP products to Miyagi Prefecture accounted for approximately 8% of total production in Japan. The total PCDD/Fs derived from CNP were estimated to be approximately 190 t (Masunaga *et al.* 2001a), and 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD constituted approximately 88% of all dioxins. Therefore, the sum of 1, 3, 6, 8-TeCDD and 1, 3, 7, 9-TeCDD from CNP products used in Miyagi Prefecture is approximately 13 t (190 t · 0.08 · 0.88). On the other hand, the sedimentation rate in Sendai Bay was estimated at 0.314 g cm^{-2} y^{-1}, the area of Sendai Bay is approximately 1600 km^2, and the concentration of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD in sediments from 1963 to 2000 ranged from 750 to 1810 pg/g dw. Thus, the total input of 1, 3, 6, 8-TeCDD and 1, 3, 7, 9-TeCDD to Sendai Bay between 1965 and 2000 was roughly estimated as 0.2 t (0.314 g cm^{-2} y^{-1} × 1,600 km^2 ×35 y × 750~1810 pg/g dw). Because the sum of 1, 3, 6, 8-TeCDD and 1, 3, 7, 9-TeCDD from CNP products used in Miyagi Prefecture (13 t) was much higher than the total input of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD to Sendai Bay from 1965 to 2000 (0.2 t), the river flow may function as a bottleneck that restricts the amount of these compounds that can reach the bay.

The delay between the time of maximum use of CNP, PCP, and PCB products and the occurrence of the maximum concentrations of major dioxin congeners in the sediments in Sendai Bay may be related to the distance from the dioxin sources on land to the sampling site in the bay. Major dioxin congeners (1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD) in the bay sediments are thought to have been carried by rivers. The Kitakami River, the largest river flowing into Sendai Bay and the fifth longest among all Japanese large rivers (A-class rivers), is 249 km long (River Bureau 2003). Some dioxin emission sources, such as the paddy fields along the river's upper reaches, may be far from Sendai Bay, so that the movement of dioxins from terrestrial areas to Sendai Bay requires a long time.

3.3.5. TEQ values

TEQ values of dioxins in sediment cores ranged from 4.4 to 83 pg-TEQ/g in Tokyo Bay (Yao *et al.* 2002) and from 0.014 to 17 pg-TEQ/g in the Uwa Sea (Kubota *et al.* 2002). TEQ values of PCDD/Fs in sediments in the Yodo River offshore region ranged from approximately 6 to 26 pg-TEQ/g (Sakai 1999). Even though for a period of several years, more CNP products were shipped to Miyagi Prefecture than to any other part of Japan (Japan Plant Protection Association 1963–1995), TEQ values of dioxins in the sediment core from Sendai Bay, ranging from 1.05 to 5.95 pg-TEQ/g (Tables 2 and 3), are lower than those reported from other areas. Because in other parts of Japan, the total amount of

PCP products used is larger than the total of CNP products (Yao *et al.* 2002), a TEF (0.0001) has been established for OCDD, which is the predominant dioxin congener in PCP products and in fly ash and exhaust emitted from incinerators, whereas no TEF (0) has been established for 1, 3, 6, 8-TeCDD or 1, 3, 7, 9-TeCDD, the predominant dioxin congeners in CNP products.

Chapter 4. Discharge of dioxins from terrestrial to marine environments

Dioxins released into the terrestrial environment can reach the marine environment, where they accumulate in marine organisms such as fish and invertebrates, and then accumulate in humans who eat seafood (Mato *et al.* 2007). As part of assessing risk from such chemicals, it is important to investigate their flux from land to sea via rivers, and their contribution to pollution of the marine environment. Numerous risk-assessment investigations have estimated the flux of these pollutants from the land to the sea via rivers (Isosaari *et al.* 2002, Verta *et al.* 2003, Kobayashi *et al.* 2004b). These studies have shown that the types of major dioxin congeners that are present vary in different regions, depending on the dioxin source. Because the point sources of dioxins and their concentrations and profiles vary in different regions, it is necessary to estimate dioxin fluxes independently for specific regions.

4.1. Dioxin concentrations and estimated sources in four major rivers of Miyagi Prefecture

1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD are major impurities in CNP. Further, OCDD is an impurity in PCP (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003). Because these congeners are the predominant dioxin homologues detected in paddy soils in Akita Prefecture, also in northern Honshu (Kobayashi *et al.* 2004a, Kiguchi *et al.* 2007), and in the sediments of Sendai Bay off Miyagi Prefecture (Chapters 2 and 3), it is reasonable to suppose that chlorinated pesticides from paddy fields in Miyagi Prefecture are major sources of the dioxins in Sendai Bay. To test this hypothesis, I used HRGC/HRMS to determine the concentrations and compositions of dioxin congeners in water samples from four major rivers flowing into Sendai Bay. I investigated the major sources of PCDD/F and Co-PCB congeners in river water samples by using principal components analysis (PCA) and a chemical mass balance (CMB) analysis. I also determined the dry weights of total suspended solids (SS) in river water samples, and using previously collected data (Japan River Association 2002–2004, and unpublished data from the Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Japan) on the flow rates of the rivers, I investigated the relationship between SS and dioxin concentrations in the river water.

4.1.1. Materials and Methods

4.1.1.1. Sampling of river water

River water sampling sites are shown in Fig. 19. Samples were collected between July 2000 and February 2003 at the mouths of the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers, where the rivers flow into Sendai Bay. Each surface river water sample was collected in a water-sampling bucket and transferred to two 10-L glass bottles and a 5-L bottle. The water samples were stored at 5 °C in a refrigerator until analysis for dioxins and SS. Published river discharge data were obtained from the Japan River Association (2002–2004) and the Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Japan.

4.1.1.2. Measurement of dry weight of total suspended solids

The dry weight of suspended solids was determined by the method described by Uematsu *et al.* (1978), with a small modification. First, each filter (Millipore HA filter; pore size: 0.45 μm) was dried in an oven at 60 °C for 3 d, cooled in a desiccator at room temperature, and then weighed with an analytical balance (filter mass = ma, g). After filtering 500–1000 mL of the river water sample from the 5-L bottle through the filter, the filter was dried again at 60 °C for 3 d and weighed (filter mass = mb, g) after cooling at room temperature. The dry weight of suspended solids (DW, g/L) was calculated as:

$$DW = (mb - ma)/v \quad (4.1)$$

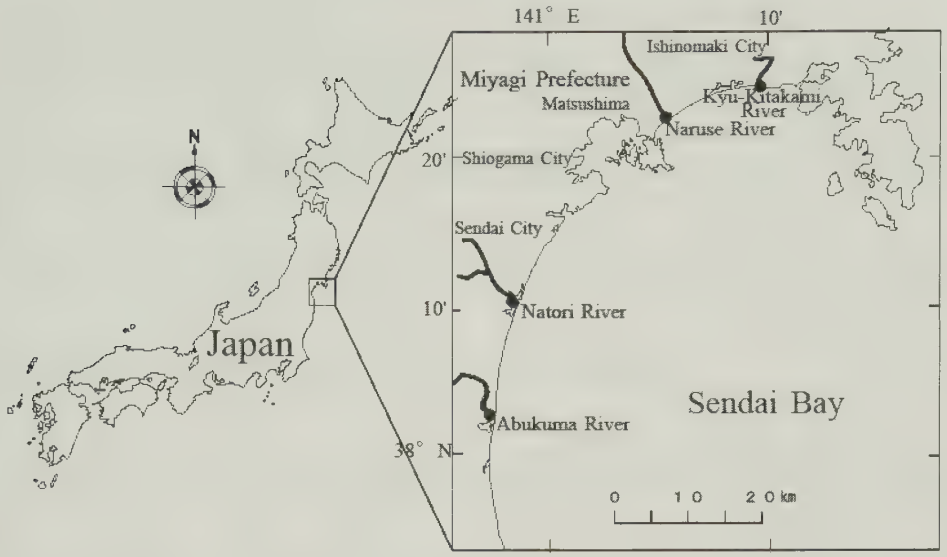


Fig. 19. Sampling sites (●) for surface river water at the mouths of the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers.

where v is the volume (L) of sample water filtered.

The dry weights of SS were measured seven or eight times for each sampling location during the study.

4.1.1.3. Analysis of dioxins

The procedures for chemical analysis of dioxins are described in Chapter 2.1.

4.1.1.4. Principal components analysis (PCA) and chemical mass balance (CMB) analysis

To clarify the major sources of dioxin in the river water samples, I carried out a principal components analysis (PCA) with SPSS (11.5J) software. Because the sources of PCDD/Fs were thought to differ from those of Co-PCBs, I performed PCA with varimax rotation twice, with two data sets. First, I obtained typical profiles of PCDD/F congeners in probable major sources of PCDD/Fs in Japan from a previously published study (Kashiwagi *et al.* 2006); I obtained four profiles of PCDD/F congener impurities in each of the agricultural chemicals CNP and PCP, and one profile of PCDD/F congeners in incinerator exhaust gases (Fig. 20). Each typical profile comprised 27 PCDD/F congener groups (1,3,6,8-TeCDD, 1, 3, 7, 9-TeCDD, 2, 3, 7, 8-TeCDD, other TeCDDs, 1, 2, 3, 7, 8-PeCDD, other PeCDDs, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDD, other HxCDDs, 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDD, 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDD, 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDD, other HpCDDs, OCDD, 2, 3, 7, 8-TeCDF, other TeCDFs, 1, 2, 3, 7, 8-PeCDF, 2, 3, 4, 7, 8-PeCDF, other PeCDFs, 1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF, 1, 2, 3, 6, 7, 8-HxCDF, 1, 2, 3, 7, 8, 9-HxCDF, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HxCDF, other HxCDFs, 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF, 1, 2, 3, 4, 7, 8, 9-HpCDF, other HpCDFs, and OCDF). The 104 PCDD/F congeners in the river water samples (41 TeCDD/F, 35 PeCDD/F, 20 HxCDD/F, 6 HpCDD/F, and 2 OCDD/F congeners; Table 4) were classified into the same 27 groups. Concentrations of PCDD/F congeners present in quantities lower than the detection limit were defined as zero. I analyzed all profiles, those of the 16 river water samples and 9 from previously published data (Kashiwagi *et al.* 2006), by PCA.

Second, I obtained profiles of PCB products from the likely Co-PCB sources, four for Kanechlor (KC300, KC400, KC500, KC600) and two for exhaust gases, from previously published data (Kashiwagi *et al.* 2006). Concentrations of Co-PCB congeners present in quantities lower than the detection limit were defined as zero. I analyzed all profiles, 16 for the river water samples and 6 from the previously published data (Kashiwagi *et al.* 2006), by PCA.

I conducted CMB analyses of PCDD/Fs using the same data set as used in the PCA, with CMB8J.xls

(Microsoft Excel add-in software; Hayakari and Hanaishi 2001) to clarify the relative contributions of dioxin sources to river water samples. This software is based on the free CMB8 software from the U.S. Environmental Protection Agency (Coulter 2004). Data resulting in low coefficients of determination (r^2 < 0.8) were reanalyzed after deletion of several congeners with low concentrations from the data set.

4.1.2. Results

4.1.2.1. Dioxin congeners and TEQs in river water

In Miyagi Prefecture, four major rivers, the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers, flow into Sendai Bay; the upper reaches of the Kyu-Kitakami and Abukuma rivers also flow through the adjacent Iwate and Fukushima prefectures, respectively (Fig. 19).

The dioxin concentrations in samples from the four rivers are shown in Table 4a-c. PCDDs were present in higher concentrations in river water than were Co-PCBs or PCDFs. In all samples, total PCDDs accounted for more than 50% of total dioxins, and in several samples, they accounted for more than 90% of total dioxins (Table 4a). Total TeCDDs and OCDD accounted for more than 80% of total PCDDs. Because TeCDD concentrations were higher than OCDD concentrations, TeCDDs were the dominant PCDD homologues in river water. 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD concentrations were markedly high among all TeCDD congeners, and 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD together accounted for more than 90% of all TeCDDs (Table 4a).

Co-PCBs accounted for 0.7% to 9.8% of all dioxins detected in the Kyu-Kitakami River, 2.8% to 4.5% of those in the Naruse River, 11.3% to 40.9% of those in the Natori River, and 5.7% to 19.2% of those in the Abukuma River (Table 4c).

TEQs of samples collected on 11 July 2002 ranged from 1.16 to 7.49 pg-TEQ/L. TEQs of samples other than those collected on 11 July 2002 ranged from 0.0079 to 1.24 pg-TEQ/L (Table 4c).

4.1.2.2. Characterization of dioxin concentrations by PCA and CMB

In the PCA of PCDD/Fs, including the data from published literature, components 1 and 2 accounted for 47.9% and 43.0%, respectively, of the total variance (Fig. 20). Thus, the percentage of variance accounted for by these two components was almost equal, and cumulatively they accounted for 90.8% of the total variance. Most PCDD/F congeners in the river water samples were therefore explained by these two components.

The typical CNP profiles plotted near the value of 1 on component 1 (x axis), while PCP and exhaust gas profiles plotted near value 0 on component 1. Thus, I interpreted component 1 as representing CNP. Most typical PCP profiles plotted near value 1 on component 2 (y axis), whereas CNP and exhaust gas profiles, and one PCP profile, plotted near 0 on component 2. Thus, I interpreted component 2 as representing PCP. The sample profiles plotted between values of 0 and 1 on both axes, and thus reflected both CNP and PCP.

In the PCA of Co-PCBs, components 1 and 2 accounted for 85.4% and 8.3% of the total variance, respectively (Fig. 21), and cumulatively accounted for 93.7% of the variance. Components 1 and 2 were strongly influenced by KC400 and KC500. Most samples plotted with KC400, and near KC500. I thus inferred that the sources of Co-PCBs in river water samples were PCB products, and that the importance of exhaust gases was low.

The CMB results indicate that the contribution of CNP as a major source of PCDD/Fs in the water samples ranged from 39% to 77%, and that of PCP from 20% to 58% (Table 4c). In every case, the sum of the CNP and PCP contribution accounted for more than 90% of total PCDD/Fs. Therefore, the CMB results suggest that the major sources of PCDD/Fs were CNP and PCP. Because the contribution from incinerator exhaust gases ranged from 0% to 5.8%, I inferred that their contribution to PCDD/Fs in the water samples was extremely low. In addition, the results of CMB analysis indicate that almost all Co-PCBs in river water samples were from PCB products (data not shown). This is consistent with the results of PCA of Co-PCBs.

4.1.2.3. Variations in dioxin concentrations with river flow rate and suspended solids content

The dioxin concentrations in the four rivers were determined on several sampling dates between 24

Table 4a. River flow rates, PCDD, PCDF, and Co-PCB concentrations in river water samples (pg/L), and sources of PCDD/Fs calculated by CMB.

River name	Kyu-Kitakami River				Naruse River				Natori River				Abukuma River			
Date	3 Oct. 2001	31 Jan. 2002	11 Jul. 2002	*28 Feb. 2003*	*24 Jul. 2000*	3 Oct. 2001	31 Jan. 2002	11 Jul. 2002	2 Oct. 2001	30 Jan 2002	11 Jul. 2002	*28 Feb. 2003*	2 Oct. 2001	30 Jan. 2002	11 Jul. 2002	*28 Feb. 2003*
River flow rate (m^3/s)	186.9	178.4	1222	*124.5*	*13.5*	40.7	44.0	1667	28.4	33.7	742.1	*5.6*	307.2	209.3	5966	*65.9*
1368-TeCDD	46 (41%)	290 (25%)	1900 (36%)	*16* (37%)	*62* (47%)	57 (45%)	140 (34%)	2400 (44%)	33 (29%)	14 (23%)	160 (21%)	*3.6* (18%)	38 (24%)	79 (26%)	1700 (38%)	*5.5* (26%)
1379-TeCDD	15 (13%)	140 (12%)	770 (15%)	*5.7* (13%)	*18* (14%)	20 (16%)	62 (15%)	890 (16%)	12 (11%)	6.0 (9.8%)	70 (9.0%)	*1.2* (6.1%)	12 (7.5%)	30 (10%)	720 (16%)	*1.6* (7.5%)
1378-TeCDD	N.D.	0.5	3.2	*N.D.*	*0.1*	N.D.	0.3	3.8	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	0.1	2.7	*N.D.*
1369/1247/1248-TeCDD	0.5	3.5	24	*0.2*	*0.7*	0.7	1.6	29	0.4	0.2	1.3	*N.D.*	0.4	0.9	26	*N.D.*
1268-TeCDD	N.D.	0.3	1.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.1	2.1	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.4	*N.D.*
1478-TeCDD	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*
2378-TeCDD	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*
1237-TeCDD	N.D.	0.7	4.9	*N.D.*	*0.1*	0.1	0.3	6.2	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	0.1	0.2	4.3	*N.D.*
1234/1246/1249/1238-TeCDD	0.4	2.5	18	*0.4*	*0.5*	0.5	1.4	21	0.5	0.2	1.0	*0.1*	0.5	0.9	16	*0.4*
1236/1279-TeCDD	N.D.	0.6	3.0	*N.D.*	*0.1*	N.D.	0.3	4.7	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	0.1	2.6	*N.D.*
1469/1278-TeCDD	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	*N.D.*
1239-TeCDD	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*
1269-TeCDD	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*
1289-TeCDD	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*
total TeCDD	62 (55%)	438 (38%)	2726 (52%)	*22* (52%)	*82* (62%)	78 (61%)	206 (50%)	3359 (62%)	46 (41%)	20 (33%)	234 (30%)	*4.9* (25%)	51 (32%)	111 (37%)	2475 (55%)	*7.5* (35%)
12468/12479-PeCDD	0.8	7.9	49	*0.5*	*1.2*	1.0	3.8	52	0.8	0.4	3.3	*0.2*	1.0	2.3	37	*0.2*
12368-PeCDD	3.7	42	250	*1.7*	*4.7*	5.1	19	270 (5.0%)	4.3	1.7	12	*0.5*	4.1	11	200	*0.5*
12478-PeCDD	N.D.	0.1	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.3	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.4	*N.D.*
12379-PeCDD	1.1	14	88	*0.6*	*1.6*	1.6	6.5	88	1.3	0.6	4.2	*0.2*	1.3	3.8	68	*0.2*
12469/12347-PeCDD	N.D.	0.5	3.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.2	4.5	N.D.	N.D.	0.9	*N.D.*	N.D.	0.2	3.5	*N.D.*
12378-PeCDD	N.D.	0.4	2.0	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.1	2.4	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	0.1	2.2	*N.D.*
12369-PeCDD	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	*N.D.*
12467-PeCDD	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*
12489-PeCDD	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*
12346-PeCDD	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*
12367-PeCDD	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*
12389-PeCDD	N.D.	0.1	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	*N.D.*
total PeCDD	5.6 (5.0%)	65 (5.7%)	395 (7.5%)	*2.8* (6.5%)	*7.5* (5.7%)	7.7 (6.0%)	30 (7.1%)	422 (7.8%)	6.4 (5.7%)	2.7 (4.4%)	22 (2.8%)	*0.9* (4.5%)	6.4 (4.0%)	17 (5.8%)	316 (7.1%)	*0.9* (4.2%)
123468/124679/124689-HxCDD	0.4	4.7	24	*0.3*	*0.8*	0.5	2.0	31	0.6	0.6	7.4	*0.3*	1.3	1.6	25	*0.2*
123679/123689-HxCDD	0.3	4.0	20	*0.2*	*0.6*	0.4	1.5	21	0.4	0.3	3.8	*N.D.*	0.8	1.2	18	*N.D.*
123478-HxCDD	N.D.	0.4	1.9	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.0	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.2	*N.D.*
123678-HxCDD	N.D.	1.3	5.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.4	5.2	N.D.	N.D.	0.9	*N.D.*	N.D.	0.4	5.5	*N.D.*
123469-HxCDD	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*
123789-HxCDD	N.D.	1.1	4.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.3	4.9	N.D.	N.D.	0.9	*N.D.*	N.D.	0.2	4.1	*N.D.*
123467-HxCDD	N.D.	N.D.	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	*N.D.*
total HxCDD	0.7 (0.6%)	11.5 (1.0%)	56.8 (1.1%)	*0.5* (1.2%)	*1.4* (1.1%)	0.9 (0.7%)	4.2 (1.0%)	65.5 (1.2%)	1.0 (0.9%)	0.9 (1.5%)	14 (1.8%)	*0.3* (1.5%)	2.1 (1.3%)	3.4 (1.1%)	56.5 (1.3%)	*0.2* (0.9%)
1234679-HpCDD	2.0	22	100	*0.8*	*3.7*	2.0	6.9	68	2.7	1.6	21	*0.5*	5.6	7.2	57	*0.6*
1234678-HpCDD	1.7	23	93	*0.6*	*2.6*	1.7	6.9	65	2.2	1.5	18	*0.3*	4.2	6.6	66	*0.5*
total HpCDD	3.7 (3.3%)	45 (3.9%)	193 (3.7%)	*1.4* (3.3%)	*6.3* (4.8%)	3.7 (2.9%)	14 (3.3%)	133 (2.5%)	4.9 (4.4%)	3.1 (5.0%)	39 (5.0%)	*0.8* (4.0%)	9.8 (6.2%)	14 (4.6%)	123 (2.7%)	*1.1* (5.1%)
OCDD	29 (26%)	520 (46%)	1500 (29%)	*11* (26%)	*26* (20%)	26 (20%)	130 (31%)	1000 (19%)	36 (32%)	23 (37%)	280 (36%)	*4.6* (23%)	65 (41%)	120 (40%)	690 (15%)	*7.4* (35%)
total PCDDs	101 (89%)	1080 (95%)	4871 (93%)	*38* (88%)	*123* (93%)	117 (91%)	384 (93%)	4979 (92%)	94 (84%)	50 (82%)	588 (76%)	*12* (58%)	134 (84%)	266 (89%)	3660 (82%)	*17* (80%)
1368-TeCDF	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.2	*N.D.*
1378/1379-TeCDF	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	*N.D.*
1347-TeCDF	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*
1468-TeCDF	N.D.	0.3	2.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.2	2.7	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.4	*N.D.*
1247/1367-TeCDF	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.5	*N.D.*
1348-TeCDF	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.C.	0.5	*N.D.*
1346/1248-TeCDF	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	0.1	2.3	*N.D.*
1246/1268-TeCDF	N.D.	0.1	1.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.3	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.0	*N.D.*
1478/1369/1237-TeCDF	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.4	*N.D.*
1678/1234-TeCDF	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.2	*N.D.*
2468/1238/1467/1236-TeCDF	2.2	13	90	*0.7*	*2*	2.5	5.8	100	1.6	0.7	4.8	*0.2*	1.7	3.5	80	*0.2*

Table 4b.

River name	Kyu-Kitakami River				Naruse River				Natori River				Abukuma River			
Date	3 Oct. 2001	31th Ja. 2002	11th Jul. 2002	*28th Feb. 2003*	*24th Jul. 2000*	3th Oct. 2001	31th Ja. 2002	11th Jul. 2002	2th Oct. 2001	30th Ja. 2002	11th Jul. 2002	*28th Feb. 2003*	2th Oct. 2001	30th Ja. 2002	11th Jul. 2002	*28th Feb 2003*
1349-TeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D*
1278-TeCDF	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.5	*N.D*
1267/1279-TeCDF	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.4	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	*N.D*
1469-TeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D*
1249/2368-TeCDF	N.D.	0.1	1.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.7	*N.D*
2467-TeCDF	N.D.	0.3	2.1	*N.D.*	*0.1*	N.D.	0.1	2.4	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	0.1	2.4	*N.D*
2347-TeCDF	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	*N.D*
1269-TeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D*
2378-TeCDF	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.3	*N.D*
2348-TeCDF	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	*N.D*
2346-TeCDF	N.D.	N.D.	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	*N.D*
2367-TeCDF	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	*N.D*
3467-TeCDF	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	*N.D*
1289-TeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D*
total TeCDF	2.2 (1.9%)	13.8 (1.2%)	105 (2.0%)	*0.7* (1.6%)	*2.1* (1.6%)	2.5 (2.0%)	6.1 (1.5%)	118 (2.2%)	1.6 (1.4%)	0.7 (1.1%)	8.6 (1.1%)	*0.2* (1.0%)	1.7 (1.1%)	3.7 (1.2%)	107 (2.4%)	*0.2* (0.9%)
13468-PeCDF	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	*N.D.*
12468-PeCDF	0.2	1.8	9.8	*N.D.*	*0.2*	0.2	0.7	12	0.2	0.1	0.8	*N.D.*	0.3	0.5	9.6	*N.D.*
13678-PeCDF	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	*N.D*
13479-PeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*
12368/13478-PeCDF	N.D.	0.2	1.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.1	1.7	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	0.1	0.1	2.4	*N.D*
12478-PeCDF	N.D.	0.2	1.2	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.2	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	0.1	2.3	*N.D.*
12479/13467-PeCDF	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.3	*N.D.*
12467-PeCDF	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.7	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.4	*N.D.*
14678/12347-PeCDF	N.D.	0.1	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.9	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.9	*N.D.*
13469-PeCDF	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*
12348/12378-PeCDF	N.D.	0.1	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.1	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*	N.D.	0.1	2.7	*N.D.*
12346-PeCDF	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	*N.D.*
12379-PeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*
12367-PeCDF	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.5	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*
12469/12678-PeCDF	N.D.	0.1	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.7	*N.D.*
12679-PeCDF	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*
12369-PeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*
23468-PeCDF	0.3	2.8	17	*0.1*	*0.4*	0.4	1.2	22	0.3	0.1	1.0	*N.D.*	0.3	0.7	15	*N.D.*
12349-PeCDF	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*
12489-PeCDF	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*
23478-PeCDF	N.D.	0.1	0.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.0	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.0	*N.D.*
12389-PeCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D,	0.1	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.1	*N.D.*
23467-PeCDF	N.D.	0.2	1.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.1	1.9	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	N.D.	0.1	2.5	*N.D.*
total PeCDF	0.5 (0.4%)	5.6 (0.5%)	37.8 (0.7%)	*0.1* (0.2%)	*0.6* (0.5%)	0.6 (0.5%)	2.1 (0.5%)	47.4 (0.9%)	0.5 (0.4%)	0.2 (0.3%)	4.9 (0.6%)	*0* (0%)	0.7 (0.4%)	1.6 (0.5%)	47.7 (1.1%)	*0* (0%)
123468-HxCDF	N.D.	1.4	5.9	*N.D.*	*0.2*	N.D.	0.6	6.3	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*	0.2	0.5	6.5	*N.D.*
134678/134679-HxCDF	N.D.	0.2	1.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.0	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	N.D.	N.D.	3.1	*N.D.*
124678-HxCDF	N.D.	2.2	9.2	*N.D.*	*0.3*	N.D.	0.8	8.7	0.2	N.D.	1.4	*N.D.*	0.4	0.8	10	*N.D.*
124679-HxCDF	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.6	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.8	*N.D.*
123478/123479-HxCDF	N.D.	0.7	2.8	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.2	2.5	N.D.	N.D.	0.7	*N.D.*	N.D.	0.3	5.4	*N.D.*
123678-HxCDF	N.D.	0.4	1.9	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.9	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	N.D.	N.D.	2.8	*N.D.*
124689-HxCDF	N.D.	1.9	8.0	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.6	7.9	N.D.	N.D.	1.0	*N.D.*	0.3	0.6	9.9	*N.D.*
123467-HxCDF	N.D.	0.3	1.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.9	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	N.D.	N.D.	3.2	*N.D.*
123679-HxCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.2	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*
123469/123689-HxCDF	N.D.	0.3	1.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.4	N.D.	N.D.	0.2	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.9	*N.D.*
123789-HxCDF	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.3	*N.D.*
123489-HxCDF	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.3	N.D.	N.D.	N.D.	*N.D.*	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*
234678-HxCDF	N.D.	0.6	3.0	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.2	3.6	N.D.	N.D.	0.5	*N.D.*	N.D.	0.2	3.7	*N.D.*
total HxCDF	0 (0%)	8.0 (0.7%)	36.4 (0.7%)	*0* (0%)	*0.5* (0.4%)	0 (0%)	2.4 (0.6%)	37.3 (0.7%)	0.2 (0.2%)	0 (0%)	5.9 (0.8%)	*0* (0%)	0.9 (0.6%)	2.4 (0.8%)	48.5 (1.1%)	*0* (0%)
1234678-HpCDF	0.4	4.6	19	*N.D.*	*0.6*	0.5	1.6	19	0.6	0.4	3.4	*N.D.*	0.9	1.8	26	*N.D.*
1234679-HpCDF	N.D.	0.2	1.5	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	1.8	N.D.	N.D.	0.4	*N.D.*	0.1	N.D.	2.5	*N.D.*
1234689-HpCDF	0.6	8.1	32	*N.D.*	*0.7*	0.6	2.5	28	0.9	0.5	4.7	*N.D.*	1.3	2.8	0.4	*N.D.*
1234789-HpCDF	N.D.	0.8	3.7	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.2	3.2	N.D.	N.D.	0.6	*N.D.*	0.2	0.3	4.3	*N.D.*

Table 4c.

River name	Kyu-Kitakami River				Naruse River				Natori River				Abukuma River			
Date	3 Oct. 2001	31th Ja. 2002	11th Jul. 2002	*28th Feb. 2003*	*24th Jul. 2000*	3th Oct. 2001	31th Ja. 2002	11th Jul. 2002	2th Oct. 2001	30th Ja. 2002	11th Jul. 2002	*28th Feb. 2003*	2th Oct. 2001	30th Ja. 2002	11th Jul. 2002	*28th Feb. 2003*
total HpCDF	1.0 (0.9%)	13.7 (1.2%)	**4.3** (0.1%)	*0* (0%)	*1.3* (1.0%)	1.1 (0.9%)	4.3 (1.0%)	**4.3** (0.1%)	1.5 (1.3%)	0.9 (1.5%)	**4.3** (0.6%)	*0* (0%)	2.5 (1.6%)	4.9 (1.6%)	**4.3** (0.1%)	*0* (0%)
OCDF	0.9 (0.8%)	14 (1.2%)	**45** (0.9%)	*N.D.* (0.0%)	*0.6* (0.5%)	1.0 (0.8%)	4.2 (1.0%)	**53** (1.0%)	1.4 (1.2%)	0.8 (1.3%)	**7.2** (0.9%)	*N.D.* (0%)	1.9 (1.2%)	4.6 (1.5%)	**82** (1.8%)	*N.D.* (0%)
total PCDFs	4.6 (4.1%)	55.1 (4.8%)	**228** (4.4%)	*0.8* (1.9%)	*5.1* (3.8%)	5.2 (4.1%)	19 (4.6%)	**260** (4.8%)	5.2 (4.6%)	2.6 (4.2%)	**31** (4.0%)	*0.2* (1.0%)	7.7 (4.8%)	17 (5.7%)	**290** (6.5%)	*0.2* (0.9%)
3,3',4,4'-TeCB(#77)	0.6	0.6	**9.7**	*0.3*	*0.5*	0.5	0.7	**8.2**	1.1	0.7	**5.8**	*0.3*	1.3	1.3	**36**	*0.4*
3,4,4',5-TeCB(#81)	N.D.	N.D.	**0.4**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**0.5**	N.D.	N.D.	**0.3**	*N.D.*	N.D.	N.D.	**1.5**	*N.D.*
3,3',4,4',5-PeCB(#126)	N.D.	N.D.	**1.0**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**1.3**	N.D.	N.D.	**0.7**	*N.D.*	N.D.	N.D.	**3.1**	*N.D.*
3,3',4,4',5,5'-HxCB(#169)	N.D.	N.D.	**0.2**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**0.4**	N.D.	N.D.	**N.D.**	*N.D.*	N.D.	N.D.	**0.7**	*N.D.*
total non-*ortho* PCBs	0.6 (0.5%)	0.6 (0.1%)	**11.3** (0.2%)	*0.3* (0.7%)	*0.5* (0.4%)	0.5 (0.4%)	0.7 (0.2%)	**10.4** (0.2%)	1.1 (1.0%)	0.7 (1.1%)	**6.8** (0.9%)	*0.3* (1.5%)	1.3 (0.8%)	1.3 (0.4%)	**41.3** (0.9%)	*0.4* (1.9%)
2,3,3',4,4'-PeCB(#105)	1.6	1.8	**30**	*1.0*	*1.1*	1.3	2.8	**37**	2.7	1.7	**34**	*2.2* (11%)	4.1	4.0	**120**	*1.0*
2,3,4,4',5-PeCB(#114)	N.D.	N.D.	**1.8**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**2.2**	0.2	N.D.	**1.8**	*N.D.*	0.3	0.3	**6.7**	*N.D.*
2,3',4,4',5-PeCB(#118)	4.9	4.5	**79**	*2.6* (6.0%)	*3.1*	3.7	7.0	**89**	7.4 (6.6%)	5.5	**91** (12%)	*4.8* (24%)	9.5 (6.0%)	9.3	**290** (6.5%)	*2.4* (11%)
2',3,4,4',5-PeCB(#123)	N.D.	N.D.	**1.5**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**2.1**	N.D.	N.D.	**1.7**	*N.D.*	0.5	0.3	**8.4**	*N.D.*
2,3,3',4,4',5-HxCB(#156)	0.3	0.5	**10**	*0.3*	*N.D.*	0.3	0.7	**12**	0.8	0.5	**13**	*0.6*	0.9	1.0	**32**	*0.3*
2,3,3',4,4',5'-HxCB(#157)	N.D.	N.D.	**2.7**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**3.4**	0.2	N.D.	**3.3**	*N.D.*	0.3	0.3	**9.0**	*N.D.*
2,3',4,4',5,5'-HxCB(#167)	N.D.	0.2	**3.8**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	0.3	**4.7**	0.8	0.3	**5.2**	*0.2*	0.4	0.5	**13**	*N.D.*
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB(#189)	N.D.	N.D.	**1.0**	*N.D.*	*N.D.*	N.D.	N.D.	**1.0**	N.D.	N.D.	**1.1**	*N.D.*	N.D.	N.D.	**2.5**	*N.D.*
total mono-*ortho* PCBs	6.8 (6.0%)	7.0 (0.6%)	**130** (2.5%)	*3.9* (9.1%)	*4.2* (3.2%)	5.3 (4.2%)	11 (2.6%)	**151** (2.8%)	12 (10%)	8.0 (13%)	**151** (19%)	*7.8* (39%)	16 (10%)	16 (5.2%)	**482** (11%)	*3.7* (17%)
total Co-PCBs	7.4 (6.6%)	7.6 (0.7%)	**141** (2.7%)	*4.2* (9.8%)	*4.7* (3.5%)	5.8 (4.5%)	12 (2.8%)	**162** (3.0%)	13 (11%)	8.7 (14%)	**158** (20%)	*8.1* (41%)	17 (11%)	17 (5.7%)	**523** (12%)	*4.1* (19%)
total dioxins	113	1142	**5240**	*43*	*133*	128	414	**5401**	112	61	**777**	*20*	159	300	**4473**	*21*
TEQ of PCDDs	0.02	0.96	**4.4**	*0.0072*	*0.029*	0.02	0.25	**4.6**	0.026	0.017	**0.73**	*0.00386*	0.049	0.24	**4.3**	*0.00554*
TEQ of PCDFs	0.0041	0.28	**1.5**	*0.00153*	*0.0061*	0.0051	0.058	**1.6**	0.0061	0.0041	**0.34**	*0.0028*	0.011	0.076	**2.8**	*0.00102*
TEQ of Co-PCBs	0.00086	0.00094	**0.12**	*0.00764*	*0.00047*	0.0007	0.0014	**0.16**	0.0017	0.001	**0.092**	*0.00120*	0.0023	0.0023	**0.39**	*0.00062*
TEQ of dioxins	0.02496	1.24094	**6.02**	*0.01637*	*0.03557*	0.0258	0.3094	**6.36**	0.0338	0.0221	**1.162**	*0.00786*	0.0623	0.3183	**7.49**	*0.00718*
PCDD/Fs of CNP source	77 (73%)	491 (43%)	2978 (58%)	22 (58%)	85 (66%)	94 (77%)	217 (54%)	3751 (71%)	99 (59%)	28 (52%)	362 (58%)	6.6 (56%)	56 (40%)	110 (39%)	2646 (67%)	7.1 (41%)
PCDD/Fs of PCP source	26 (24%)	639 (56%)	2075 (41%)	16 (42%)	39 (31%)	55 (20%)	174 (43%)	1420 (27%)	38 (38%)	24 (46%)	252 (41%)	4.6 (39%)	82 (58%)	165 (58%)	1074 (27%)	9.9 (57%)
PCDD/Fs of exhaust gas source	3.3 (3.1%)	4.5 (0.4%)	51 (1.0%)	0 (0%)	4 (3.1%)	3.5 (2.9%)	12 (3.0%)	68 (1.3%)	2.4 (2.4%)	0.9 (1.7%)	6.2 (1.0%)	0.6 (5%)	3.7 (2.6%)	7.6 (2.7%)	229 (5.8%)	0.3 (2.0%)

bold, high water flow days; *italic*, low water flow days; the percentage of each homologue and major congener of dioxins in relation to the total dioxin concentration is shown in parentheses

River flow rates were obtained from a published report [13] and from unpublished data from the Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Japan

July 2000 and 28 February 2003; water flow in the rivers varied among the sampling dates (Table 4a-c). The flow rates were low on 24 July 2000 and 28 February 2003. In contrast, a typhoon struck Miyagi Prefecture in the early morning of 11 July 2002 (Japan Meteorological Agency 2002). Rainfall associated with the typhoon began on 10 July 2002, and more than 100 mm of precipitation was observed on both 10 and 11 July at several observation points in Miyagi Prefecture. As a result, the river flow rates increased greatly on those days. On 11 July 2002, after the typhoon had passed, concentrations were markedly higher: 5240 pg/L in the Kyu-Kitakami River, 5401 pg/L in the Naruse River, 777 pg/L in the Natori River, and 4473 pg/L in the Abukuma River (Table 4c, **bold**). When flow rates were low (on 24 July 2000 and on 28 Feb. 2003), dioxin concentrations in all four rivers were below 200 pg/L, and they were particularly low, about 20 pg/L, in the Natori and Abukuma Rivers (Table 4c, *italic*). The dioxin concentrations measured at high flow rates were thus 30 to 200 times those at low

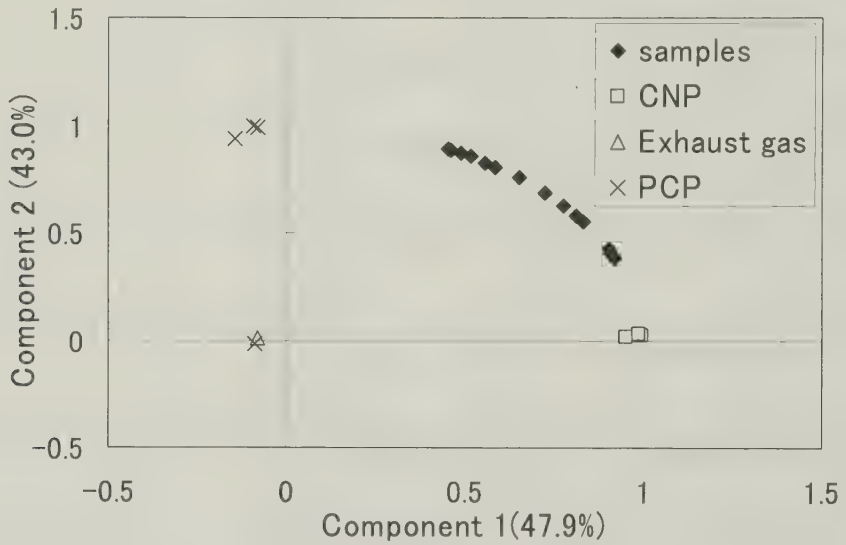


Fig. 20. PCA plot of PCDD/Fs in river water samples and in potential sources (from Kashiwagi et al. 2006).

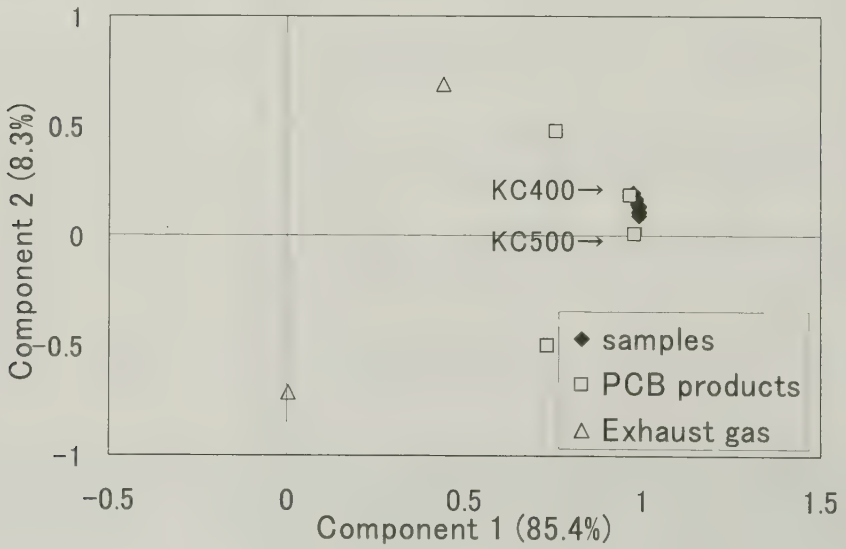


Fig. 21. PCA plot of Co-PCBs in river water samples and in potential sources (from Kashiwagi et al. 2006).

flow rates.

Total dioxin concentrations increased with increasing river flow rates (Fig. 22). For each river, the total dioxin concentration (x; pg/L) was significantly and positively correlated with the daily discharge (y; m^3/s) (Kyu-Kitakami, $\log y = 1.77 \times \log x - 1.68$, $r^2 = 0.7$; Naruse, $\log y = 0.80 \times \log x + 1.11$, $r^2 = 0.92$; Natori, $\log y = 0.74 \times \log x + 0.79$, $r^2 = 0.96$; and Abukuma, $\log y = 1.11 \times \log x - 0.46$, $r^2 = 0.93$; $P < 0.05$ for all).

Similarly, for each river, the logarithm of the SS concentration (mg/L) was positively correlated with the logarithm of flow rates (m^3/s; $r^2 = 0.87$ for Kyu-Kitakami, 0.92 for Naruse, 0.84 for Natori, and 0.87 for Abukuma; $P < 0.05$ for all) (Fig. 23).

4.1.3. Discussion

4.1.3.1. Dioxin congeners and TEQs in river water

In river water, 1, 3, 6, 8-TeCDD, 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD were the dominant dioxin homologues (Table 4). Several dioxin congeners are known to be associated with particular dioxin emission sources (Hashimoto 2004, Verta *et al.* 2007). For example, 2, 3, 7, 8-TeCDF has been detected in pulp mill bleaching wastes (Rappe *et al.* 1989); OCDF from a plant producing vinyl chloride monomers (Isosaari *et al.* 2000); 1, 3, 6, 8-TeCDF, 1, 3, 6, 7, 8-PeCDF, and 1, 2, 3, 4, 7, 9-HxCDF in wastes from a dye manufacturing plant (Kakimoto *et al.* 2006); and 1, 2, 7, 8-TeCDD, 2, 3, 7, 8-TeCDF, 1, 2, 3, 7, 8-PeCDD,

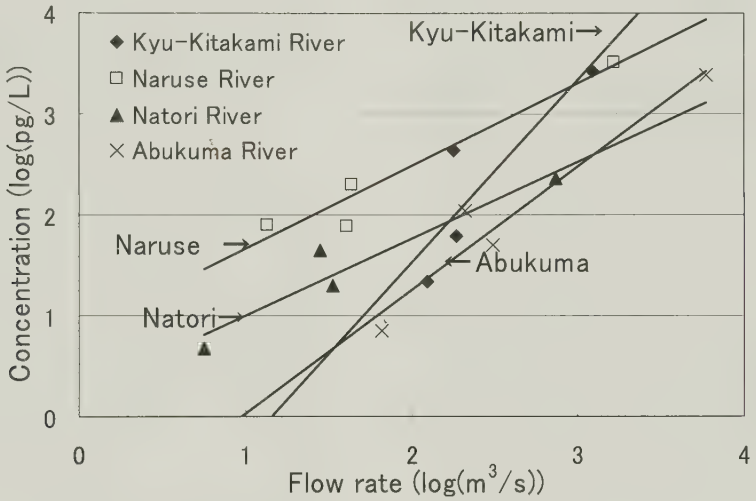


Fig. 22. Relationships between river flow rates and total dioxin concentrations in four large rivers in Miyagi Prefecture.

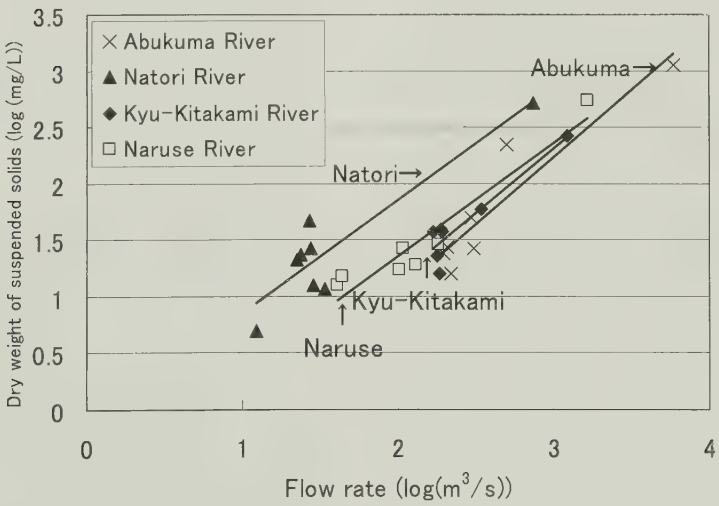


Fig. 23. Relationships between river flow rates and suspended solids concentrations in four large rivers in Miyagi Prefecture.

1, 2, 3, 4, 7, 8-HxCDF, and 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF in industrial wastewaters from acetylene, caprolactam, pigment, and potassium sulfate factories (Hashimoto 2004). Similarly, TeCDF is a byproduct of the production of trichlorobenzenes (Schrann *et al.* 1995); 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8-HpCDF has been detected in chlorophenols (Verta *et al.* 1999, 2003, Isosaari *et al.* 2002); OCDD in general air samples (Lohmann and Jones 1998) and in PCP (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003); 1, 3, 6, 8-TeCDD and 1, 3, 7, 9-TeCDD in CNP (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003); and 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD, and OCDD are known to be major dioxin congeners in paddy soils in Japan (Seike *et al.* 2003, Kobayashi *et al.* 2004a, Uegaki *et al.* 2006). Moreover, compositions of dioxin congener assemblages in river waters were similar to those in paddy soil, in sediments of rivers draining agricultural areas in Japan (Kobayashi *et al.* 2004a, Kiguchi *et al.* 2007), and in sediments in Sendai Bay (Chapters 2 and 3, this study). I considered paddy fields to be the major source of dioxins in river water, in seawater, and in sediment samples from Sendai Bay.

Impurities in chlorinated pesticides were less abundant and the ratio of Co-PCBs to total dioxins was higher in the Natori River than in the other rivers (Table 4). These differences may be because the Natori River, which flows to Sendai Bay through the city of Sendai, has fewer paddy fields and more PCB products in its catchment than the other rivers.

Except for the TEQs of the samples collected on 11 July 2002, the TEQs found in this study ranged from 0.01 to 1.2. TEQs of river water samples collected in Hokuriku District and near Tokyo Bay ranged from 0.11 to 1.6 pg-TEQ/L (Kakimoto *et al.* 2006) and from about 0.1 to 0.8 pg-TEQ/L (Takada 1997), respectively. Therefore, the TEQs in this study were similar to those reported in studies conducted in other parts of Japan.

4.1.3.2. Characterization of dioxin concentrations by PCA and CMB

The PCA and CMB results indicate that the major dioxins sources in the river water samples were CNP and PCP (Fig. 20 and Table 4c). Impurities in the chlorinated pesticides CNP and PCP, and incinerator exhaust gases, have been identified as major sources of dioxins in river water in Japan (Kobayashi *et al.* 2003, Kiguchi *et al.* 2007), but the sources are considered to differ according to the character of the river basin, whether urban or agricultural (Kiguchi *et al.* 2007). Major dioxin sources in river water samples collected in the Tokyo Metropolitan Area and in Kanagawa Prefecture, which are largely urbanized, were reported to be exhaust gases (Kobayashi *et al.* 2003), whereas major dioxin sources in river water samples collected in Akita Prefecture were reported to be CNP and PCP (Kobayashi *et al.* 2004a). Thus, in this study, the results of river water samples collected in Miyagi Prefecture were similar to those for agricultural rather than urban areas.

4.1.3.3. Variations in dioxin concentrations with river flow rate

The dioxin concentrations measured at high flow rates on 11 July 2002 were 30 to 200 times those at low flow rates (Table 4; Fig. 22). These results suggest that large amounts of dioxins were discharged into Sendai Bay during the flood event.

In general, paddy fields are flooded with water from rivers in spring and summer during rice plowing, planting, and growing. Dioxin concentrations in rivers during these seasons are reported to be higher than those in autumn (Kakimoto *et al.* 2006). In Miyagi Prefecture, July is the rice-growing season, and the paddy fields are flooded with river water. The high dioxin concentrations on 11 July 2002 is attributable to the fact that the region was struck by a typhoon when the paddy fields were flooded with river water. Thus, dioxins in the paddy field soils could be easily transferred into the rivers.

4.1.3.4. Changes in total dioxin concentrations with suspended solid loads

Total dioxin concentrations increased with increasing river flow rates (Fig. 22). These results are consistent with those of a previous report, in which the TEQ of dioxins was linearly related to river water discharge near Tokyo Bay (Kobayashi *et al.* 2004b). Similarly, for each river sampled in this study, the logarithm of the SS concentration (mg/L)

was positively correlated with the logarithm of daily discharge (Fig. 23). These results are also consistent with previously reported results (Takada 1997).

Dioxin congeners are water-insoluble, and they are easily adsorbed onto suspended solids (Brochu *et al.* 1995). A previous study found that TEQs of suspended-phase dioxins in river water were higher than those of dissolved-phase dioxins (Kobayashi *et al.* 2004b), and TEQ values of dioxins in river water also increased with the concentration of SS (Kobayashi *et al.* 2004b, Kakimoto *et al.* 2006). Thus, the results of this study suggest that dioxins remaining in paddy soils and/or riverbed sediments were discharged in large quantities to Sendai Bay during flooding.

4.2. Estimated dioxin discharges into Sendai Bay from terrestrial sources in Miyagi Prefecture

As part of a program to estimate dioxin flux into Sendai Bay over the last several decades, I estimated the annual flux of major dioxin congeners discharged from the terrestrial environment into Sendai Bay by four major rivers.

4.2.1. Materials and Methods

The daily 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD flux u (g/d) from each river was calculated as:

$$u = w \times x \quad (4.2)$$

where w is the concentration of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD calculated from the relationship between water flow rate (m^3/s) and 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD concentration (pg/L) in each river (Table 5) and x is the daily flow rate (m^3/d). I used the data presented in Chapter 4.1 to determine the linear equations describing the relationships between flow rates and concentrations, and then compiled Table 6. I obtained the daily flow rates for each river from 1999–2002 from published data (Japan River Association 2001–2004). To determine daily 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD concentrations for each river, I used one of the two equations shown in Table 5. The correlation coefficients for the equations based on non-transformed data were higher than those using log-transformed data. When flow rates were high, the daily dioxin fluxes were calculated using non-transformed data. When the flow rate was near zero, the daily dioxin fluxes calculated from the non-transformed data plotted near the intercept, and a negative intercept implies a negative daily flux. However, daily fluxes calculated from the log-transformed values are always positive. Therefore I used the following approach to determine which equation to use: when the discharge was less than a node between the non-transformed equation and the log-transformed equation, I used the logarithmic equation. Otherwise, I used the real number equation.

The annual 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD flux y (g/y) from each river to Sendai Bay was then calculated as follows:

$$y = \Sigma u \quad (4.3)$$

where Σu is the sum of the daily 1,3,6,8- + 1,3,7,9-TeCDD flux discharges from each river to the bay over 1 year (g/y).

The annual average daily 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD flux z (g/d) for each river was calculated as follows:

$$z = \Sigma u/365 \quad (4.4)$$

The same approach was used to calculate annual average daily fluxes of OCDD and TEQs.

TEQs were calculated by using toxic equivalency factors (TEFs) provided by the World Health Organization (Van den Berg *et al.* 1998), instead of the I-TEQ calculated by using the international toxic equivalency factors (I-TEFs) given by Kurtz *et al.* (1990).

4.2.2. Results

4.2.2.1. Daily flow rate

Figure 24 shows published daily river flow rates for the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers for 1999–2002 (Japan River Association 2001–2004). The summed average daily flow rate of the four rivers was 526 m^3/s in 1999, 510 m^3/s in 2000, 357 m^3/s in 2001, and 401 m^3/s in 2002, and their relative magnitudes were: 1999 > 2000 > 2002 > 2001. The individual average daily flow rates of the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers ranged from 165 to 296 m^3/s, 38 to 65 m^3/s, and 12 to 21 m^3/s, 139 to 182 m^3/s, respectively, and their relative magnitudes were: Kyu-Kitakami > Abukuma

Table 5. Linear relationships between dioxin concentrations and river discharge.

dioxin type	river name	linear equation	r^2	N	prediction limit
1,3,6,8-, and 1,3,7,9-TeCDD	Kyu-Kitakami	log y = 1.81x log X − 2.09	0.76	4	log y = 1.81 x log X − 2.09 ± (0.31 x (1+1/4+(log X−2.48)^2/0.85))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 2.36 X − 215	0.98	4	y = 2.36 X − 215 ± (40343 x (1+1/4+(x−508)^2/1148205))$^{1/2}$ x 0.82
	Naruse	log y = 0.82 x l og X + 0.85	0.94	4	log y = 0.82 x l og X + 0.85 ± (0.054 x (1+1/4+(log X−2.16)^2/2.55))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 1.94 X + 56.1	0.99	4	y = 1.94 X + 56.1 ± (3519 x (1+1/4+(x−584)^2/2639577))$^{1/2}$ x 0.82
	Natori	log y = 0.76 x l og X − 0.25	0.92	4	log y = 0.76 x l og X − 0.25 ± (0.063 x (1+1/4+(log X−1.72)^2/3.46))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.288 X + 16.6	0.98	4	y = 0.288 X + 16.6 ± (314 x (1+1/4+(x−260)^2/522436))$^{1/2}$ x 0.82
	Abukuma	log y = 1.22 x l og X − 1.19	0.94	4	log y = 1.22 x l og X − 1.19 ± (0.11 x (1+1/4+(log X−2.64)^2/3.1))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.409 X − 23.8	0.99	4	y = 0.409 X − 23.8 ± (2469 x (1+1/4+(x−2081)^2/33990748))$^{1/2}$ x 0.82
OCDD	Kyu-Kitakami	log y = 1.76 x l og X − 2.15	0.7	4	log y = 1.76 x l og X − 2.15 ± (0.61 x (1+1/4+(log X−2.48)^2/0.85))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 1.25 X − 18.6	0.9	4	y = 1.25 X − 18.6 ± (75084 x (1+1/4+(x−508)^2/1148205))$^{1/2}$ x 0.82
	Naruse	log y = 0.77 x l og X + 0.53	0.93	4	log y = 0.77 x l og X + 0.53 ± (0.11 x (1+1/4+(log X−2.16)^2/2.55))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.575 X + 41.7	0.99	4	y = 0.575 X + 41.7 ± (3025 x (1+1/4+(x−584)^2/2639577))$^{1/2}$ x 0.82
	Natori	log y = 0.81 x l og X + 0.17	0.96	4	log y = 0.81 x l og X + 0.17 ± (0.03 x (1+1/4+(log X−1.72)^2/3.46))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.36 X + 13.0	0.99	4	y = 0.36 X + 13.0 ± (138 x (1+1/4+(x−260)^2/522436)$^{1/2}$ x 0.82
	Abukuma	log y = 0.89 x l og X − 0.43	0.93	4	log y = 0.89 x l og X − 0.43 ± (0.15 x (1+1/4+(log X−2.64)^2/3.1))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.109 X + 42.8	0.98	4	y = 0.109 X + 42.8 ± (2452 x (1+1/4+ (x−2081)^2/33990748))$^{1/2}$ x 0.82
TEQs	Kyu-Kitakami	log y = 2.24 x l og X − 6.06	0.63	4	log y = 2.24 x l og X − 6.06 ± (0.9 x (1+1/4+(log X−2.48)^2/0.85))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.0053 X − 0.451	0.97	4	y = 0.0053 X − 0.451 ± (0.4001 x (1+1/4+(x−508)^2/1148205))$^{1/2}$ x 0.82
	Naruse	log y = 1.11 x l og X − 2.8	0.84	4	log y = 1.11 x l og X − 2.8 ± (0.28 x (1+1/4+(log X−2.16)^2/2.55))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.0038 X − 0.0001	0.99	4	y = 0.0038 X − 0.0001 ± (0.0187 x (1+1/4+(x−584)^2/2639577))$^{1/2}$ x0.82
	Natori	log y = 1.05 x l og X − 3.03	0.97	4	log y = 1.05 x l og X − 3.03 ± (0.042 x (1+1/4+(log X−1.72)^2/3.46))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.0016 X − 0.0156	0.99	4	y = 0.0016 X − 0.0156 ± (0.0003 x (1+1/4+(x−260)^2/522436))$^{1/2}$ x0.82
	Abukuma	log y = 1.43 x l og X − 4.46	0.88	4	log y = 1.43 x l og X − 4.46 ± (0.3 x (1+1/4+(log X−2.64)^2/3.1))$^{1/2}$ x 0.82
		y = 0.0013 X − 0.116	0.99	4	y = 0.0013 X − 0.116 ± (0.0379 x (1+1/4+(x−2081)^2/33990748))$^{1/2}$ x 0.82

X is daily flow rate. y is dioxin concentration.Linear relationships were determined from data collected between July 2000 and February 2003 from near the river mouths (Chapter 4.1)

> Naruse > Natori. The average daily flow rate of the Kyu-Kitakami was highest in 2000, and those of the Abukuma, Naruse, and Natori, as well as the summed daily flow rate of the four rivers, were highest in 1999. The maximum average flow rates of each of the four rivers were all observed in 2002: 1900 m^3/s for the Kyu-Kitakami, 1700 m^3/s for the Naruse, 740 m^3/s for the Natori, and 5700 m^3/s for the Abukuma. A typhoon that struck Miyagi Prefecture on 11 July 2002 (Japan Meteorological Agency 2002) greatly increased the discharge at that time.

4.2.2.2. Relationship between daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and river flow rate

Daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD in the four rivers for each of the years 1999–2002 are shown in Fig. 25. The annual average daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD were calculated from equations (4.3) and (4.4). For the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers the fluxes ranged from 3.0 to 14 g/d, 0.7 to 2.9 g/d, 0.021 to 0.11 g/d, and 1.0 to 4.4 g/d, respectively. The relative magnitudes of the annual average daily fluxes of the four rivers were: Kyu-Kitakami > Abukuma > Naruse > Natori. The annual average daily flux of these congeners from the Kyu-Kitakami River into Sendai Bay accounted for 49% to 84% of the total flux from the four rivers, whereas that from the Natori River accounted for 0.13% to 0.83%. The Kyu-Kitakami River was thus the major source of 1,3,6,8- and 1,3,7,9-TeCDD discharged into Sendai Bay.

The daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD increased with increasing river flow rates (Figs. 24 and 25). Periods during which flow rate was higher than the average daily flow rate accounted for 18% to 36% of the year; the fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD during these periods accounted for 49% to 97% of the total annual fluxes. The highest daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD from the four rivers were observed in 2002. For the Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers they were approximately 690, 480, 15, and 1100 g/d, respectively. These values were more than 10 times the average daily flux for each river.

4.2.2.3. Estimation of annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD and TEQs into Sendai Bay

The annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD ranged from 2100 to 8500 g/y for the

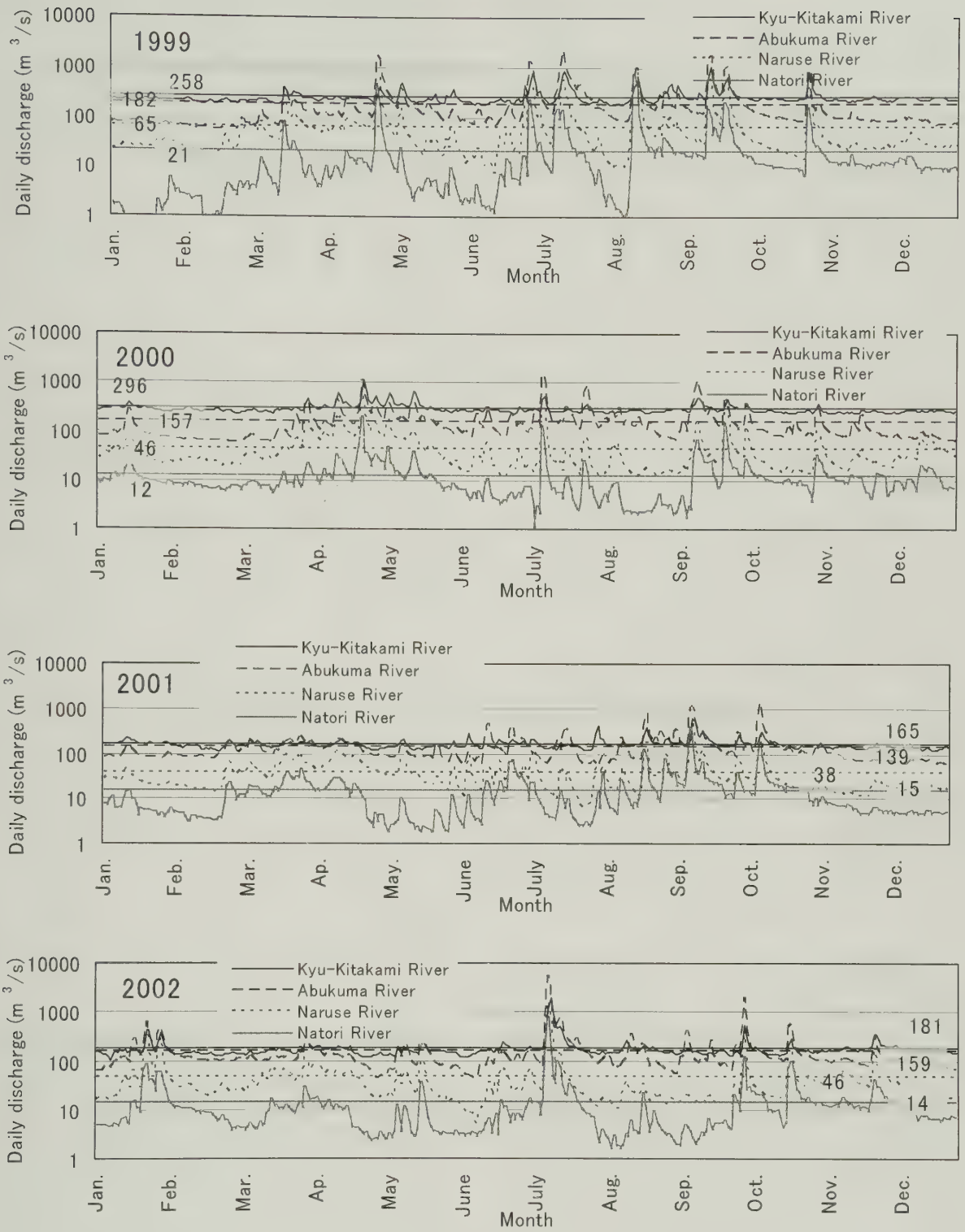


Fig. 24. Daily discharge from 1999 to 2002 of the Kyu-Kitakami, Abukuma, Naruse, and Natori rivers in Miyagi Prefecture, Japan (Japan Meteorological Agency 2002). Annual average daily discharges for each river are also shown with straight lines.

Kyu-Kitakami River, 360 to 1400 g/y for the Naruse River, 15 to 87 g/y for the Natori River, and 580 to 2200 g/y for the Abukuma River, and their relative magnitudes were Kyu-Kitakami > Abukuma > Naruse > Natori (Table 6). The areas under paddy field in the vicinity of the Kyu-Kitakami, Naruse,

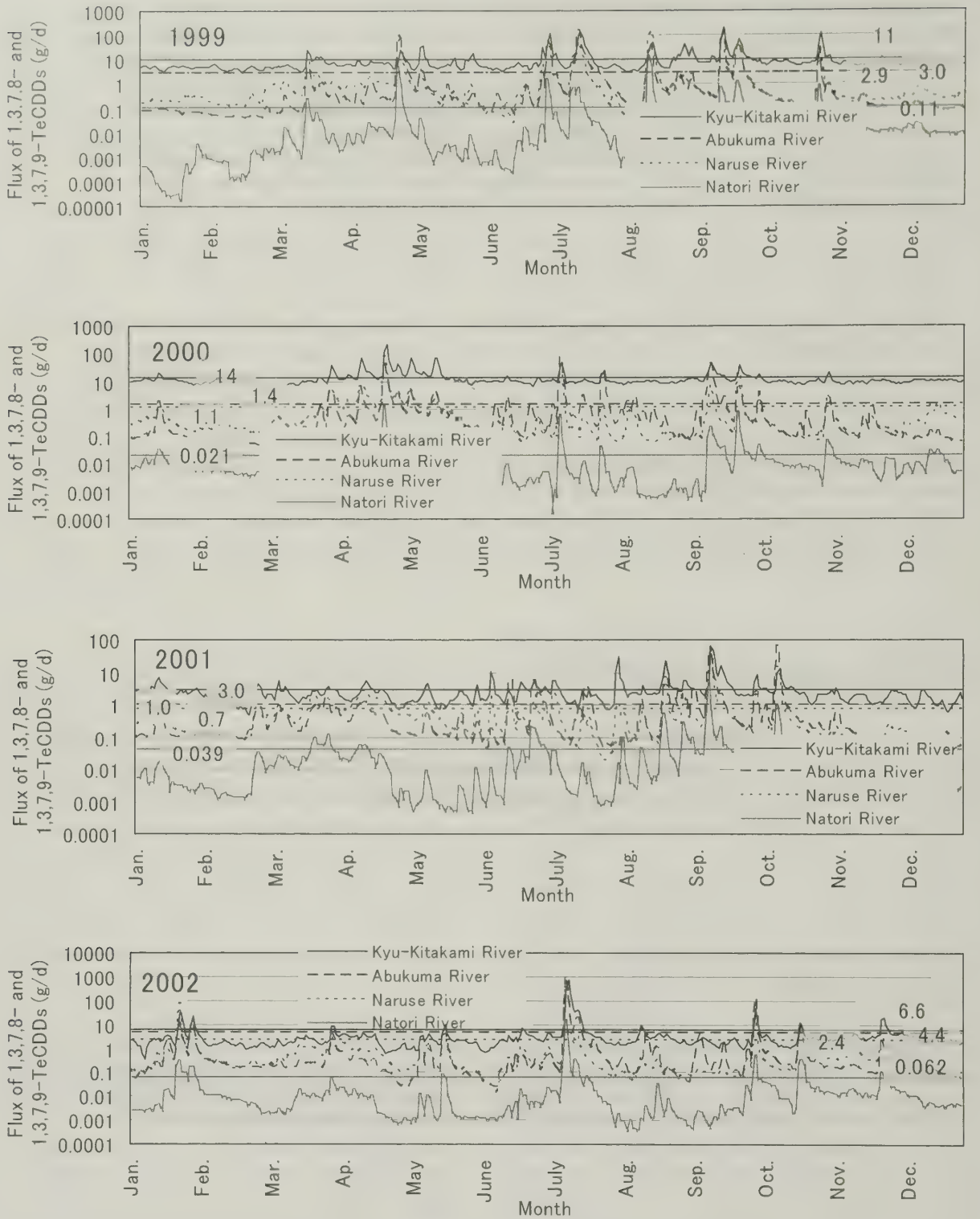


Fig. 25. Daily fluxes from 1999 to 2002 of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD to Sendai Bay from the Kyu-Kitakami, Abukuma, Naruse, and Natori rivers. Annual average daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD for each river are also shown with straight lines.

Natori, and Abukuma rivers in Miyagi Prefecture from 1999 to 2002 were approximately 147,742, 42,762, 9510, and 70,260 ha, respectively (Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries 2010). For these four rivers, the annual river water discharge ranged from 1900 to 3400 km^3/y, 440 to 750 km^3/y, 140 to

240 km^3/y, and 1600 to 2100 km^3/y, respectively. The annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD were highest in the Kyu-Kitakami River, where both the area of paddy fields and the water discharge were greatest. In contrast, the annual fluxes of these contaminants were lowest in the Natori River, where both the area of paddy fields and the water discharge were smallest.

1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD and TEQ concentrations were highest in the Kyu-Kitakami River in 2000, and highest in the Naruse and Natori rivers in 1999. In years when flow rates were high, dioxin concentrations also tended to be high (Fig. 24, Table 6). In the Abukuma River, major dioxin and TEQ concentrations were highest in 2002, despite the flow rates being lower than in 1999.

Interannual variations in the summed fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD for the four rivers ranged from 1700 to 6200 g/y and those of OCDD ranged from 1400 to 4000 g/y. Interannual variations in the summed TEQ fluxes of the four rivers ranged from 4.04 to 14.5 g WHO-TEQ/y. The greatest interannual variability in TEQ flux over the period 1999–2002 was observed in the Natori River, where the flux ranged from 0.02 to 0.17 g WHO-TEQ/y. The least interannual variability in TEQ flux was observed in the Kyu-Kitakami River, where it ranged from 2.6 to 11.5 g WHO-TEQ/y. Thus, the annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD, and of the TEQs, varied by factors ranging from approximately 3 to 10 in individual rivers during the 4 years covered by this study.

4.2.3. Discussion

4.2.3.1. Calculation of daily 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD fluxes in relation to river flow rate

The daily fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD increased with increasing river flow rate (Figs. 24 and 25). Days of high water flow contributed greatly to the annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD from these rivers into Sendai Bay. During periods of flooding and high flow rate, high concentrations of dioxin were observed in river samples (Stachel *et al.* 2004) and in a modeling study (Kobayashi *et al.* 2004b). My calculations of dioxin fluxes were consistent with those in these previous reports. There is a good correlation between dioxin concentration and the concentration of suspended solids (Kakimoto *et al.* 2006, this study [Chapter 4.1]). Particulate-phase dioxins are known to be in higher concentrations than dissolved dioxins, and discharge occurs mainly in the particulate phase (Kobayashi *et al.* 2004b). High concentrations of chemicals at times of high flow rate are thought to be the result of resuspension of river sediments (Takada *et al.* 1992). I believe that particulate dioxins resuspended from sediments during periods of high flow rate are the main contributor to dioxin fluxes into Sendai Bay.

4.2.3.2. Estimation of annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD, and OCDD into Sendai Bay, including TEQ fluxes

The annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD were highest in the Kyu-Kitakami River, where both the area of paddy fields and the flow rate were greatest (Fig. 24, Table 6). In contrast, the annual fluxes of these contaminants were lowest in the Natori River, where both the area of paddy fields and the flow rate were smallest. These results suggest that the annual fluxes of 1, 3, 6, 8-+ 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD are dependent on the land area under paddy fields in the river catchments and, by extrapolation, the amount of chlorinated pesticides (CNP and PCP) used in the rice-growing areas.

The summed annual fluxes (in TEQs) for the four rivers during 1999–2002 ranged from 4.04 to 14.5 g TEQ/y (Table 6). In previously published reports, the total flux from six rivers into Tokyo Bay was 12.6 g TEQ/y (Kobayashi *et al.* 2004b); from the Kymijoki River into the Gulf of Finland the value was 44 g I-TEQ in 2001 (Verta *et al.* 2003). Thus, the TEQs of the fluxes into Sendai Bay and Tokyo Bay were similar, although the major sources of the dioxins and the flow rates for these two regions were different. The TEQ values for the fluxes into Sendai Bay (calculated as WHO-TEQ) were lower than for those into the Gulf of Finland (calculated as I-TEQ), although I-TEQ values are sometimes slightly lower than WHO-TEQ values (You *et al.* 2004, Nakatani 2006).

1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD and TEQ concentrations were highest in the Kyu-Kitakami

Table 6. Calculated annual flux of dioxins (g/y) from the Kyu-Kitakami, Abukuma, Naruse, and Natori rivers to Sendai Bay.

species	year	Kyu-Kitakami River	Naruse River	Natori River	Abukuma River	total
1,3,6,8-and 1,3,7,9-TeCDD	1999	4000 (2500, 5500)	1100 (950, 1200)	40 (33, 49)	1100 (930, 1300)	6200 (4400, 8000)
	2000	5000 (3300, 6700)	410 (240, 500)	7.6 (5.0, 12)	520 (370, 660)	5900 (4000, 8000)
	2001	1100 (350, 2100)	260 (210, 330)	14 (10, 20)	370 (260, 490)	1700 (820, 2900)
	2002	2400 (1500, 2500)	860 (790, 950)	23 (19, 28)	1600 (1500, 1700)	4900 (3800, 6200)
OCDD	1999	2900 (900, 4700)	360 (270, 460)	46 (42, 52)	480 (320, 700)	3800 (1500, 5900)
	2000	3500 (1100, 5900)	150 (100, 220)	7.7 (6.0, 10)	280 (160, 460)	4000 (1400, 6600)
	2001	1100 (130, 1700)	100 (61, 160)	15 (13, 19)	210 (120, 360)	1400 (320, 2200)
	2002	1800 (700, 2600)	280 (230, 360)	26 (23, 29)	570 (440, 750)	2700 (1400, 3700)
TEQs	1999	9.2 (4.4, 13.1)	1.8 (1.6, 2.1)	0.17 (0.16, 0.18)	3.3 (2.7, 3.9)	14.5 (8.8, 19.3)
	2000	11.5 (6.0, 17.0)	0.66 (0.50, 0.83)	0.017 (0.014, 0.02)	1.5 (0.96, 1.9)	13.7 (7.5, 19.8)
	2001	2.6 (0.47, 3.8)	0.39 (0.26, 0.53)	0.043 (0.038, 0.048)	1.0 (0.65, 1.4)	4.0 (1.4, 5.8)
	2002	5.6 (3.0, 7.2)	1.5 (1.4, 1.7)	0.092 (0.087, 0.096)	4.9 (4.4, 5.4)	12.1 (8.9, 14.3)

(,): lower and upper of prediction limit

River in 2000, and highest in the Naruse and Natori rivers in 1999. In years when flow rates were high, dioxin concentrations also tended to be high (Fig. 24, Table 6). In the Abukuma River, major dioxin and TEQ concentrations were highest in 2002, despite the flow rates being lower than in 1999. In 2002, the highest flow rate of the study period was observed in the Abukuma River as a result of a typhoon (Japan Meteorological Agency 2002). This suggests that typhoon-related high flow rates caused the high major dioxin and TEQ fluxes.

The annual fluxes of 1, 3, 6, 8- + 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD, and the TEQs, varied by factors from approximately 3 to 10 in individual rivers during the 4 years covered by this study (Table 6). This study shows that dioxin fluxes vary considerably from year to year; therefore, it is essential that investigations of riverine fluxes of dioxins to the sea are carried out over a span of several years.

Chapter 5. Mass balance of major dioxin congeners from impurities in pesticides used in Miyagi Prefecture

Because marine pollution is generally observed near urban areas rather than near agricultural areas, investigations of marine pollution have been conducted mainly in urban areas. Moreover, bays near urban areas are affected by sludge, by anoxic water at the bay bottom, and by red tides caused by eutrophication, all of which produce severe environments for marine organisms and render such bays unsuitable for fisheries.

Sendai Bay is an important area for coastal

fisheries, including aquaculture. In Miyagi Prefecture, face to Sendai Bay, large amounts of the chlorinated pesticides CNP and PCP were used in the past (Kato *et al.* 2005). By using the published shipment data for CNP and PCP for Miyagi Prefecture (Japan Plant Protection Association 1963–1995), it is possible to calculate the total quantity of the major dioxin congeners that were introduced as impurities in these chlorinated pesticides. Moreover, in a series of investigations in Sendai Bay and Miyagi Prefecture, past dioxin concentrations in seawater, sediment, marine organisms, and river water were determined (Chapters 2–4). In this chapter, the mass balance of dioxins from CNP and PCP sources are calculated, taking into account residual quantities in the terrestrial environment, emissions from major rivers to Sendai Bay, accumulation in seawater, bioaccumulation in organisms, settling to the sea bottom, and discharges from Sendai Bay to offshore waters. Although there have been attempts to estimate the mass balance of PCBs (Tanabe and Tatsukawa 1981, Yanagi and Hashimoto 2000), studies on the mass balance of dioxins are limited.

5.1. Materials and Methods

1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD were the major dioxin congeners occurring as impurities in CNP products, and OCDD was the major dioxin congener occurring in PCP products (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003). In this study, 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD were used as tracers, and a mass balance was calculated for the sum of the concentrations of these three congeners in Sendai Bay and the surrounding Miyagi Prefecture (Fig. 26, Table 7). These three congeners are collectively referred to as "the major pesticide dioxins" in this chapter. For these calculations, the seaward boundary was set as shown in Fig. 26 and the size and shape of the bay were defined, and then the seawater volume of the bay was calculated.

5.1.1. Total amounts of major pesticide dioxins in the terrestrial environment of Miyagi Prefecture from 1963 to 2002

CNP and PCP products were shipped to Miyagi Prefecture from 1966 to 1994, and from 1963 to 1985, respectively. The annual shipments of CNP and PCP products into Miyagi Prefecture were separately calculated using data from the literature (Japan Plant Protection Association, 1963, 1964,…1995; Chapter 4.1, this work). The concentrations of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD in CNP products and OCDD concentrations in PCP products varied according to the date of manufacture (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003). The concentrations used for this study were from published values (Masunaga *et al.* 2001a). The quantities of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD released annually to the environment were calculated by multiplying the annual amounts of CNP products shipped by the concentrations of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD in CNP products each year. Similarly, the annual quantities of OCDD were calculated by multiplying the annual shipments of PCP products by the OCDD concentration in those products each year (Table 7a, steps 1–3).

Dioxin compounds in the environment gradually disappeared as a result of degradation, runoff, and volatilization (Claudia and Matsumura 1978, Sinkkonen and Paasivirta 2000, Masunaga *et al.* 2001b). The residual quantities of the major pesticide dioxins in the terrestrial environment were calculated by assuming a 2% annual loss through these processes (Masunaga *et al.* 2001b; Table 7a, step 4).

5.1.2. Total emissions from major rivers to Sendai Bay from 1963 to 2002

The annual flux data for the major pesticide dioxins from the major rivers of Miyagi Prefecture to Sendai Bay were obtained as shown in Chapter 4.2 (Table 7a, steps 5–7). Historically, dioxin concentrations in sediment samples from Sendai Bay gradually increased from the mid-1930s to the mid-1980s, and then decreased slightly from the mid-1980s to the early 2000s (Chapter 3). The estimated annual fluxes were corrected taking into account this historical trend of concentrations in sediments (Table 7a, steps 8–21). The total fluxes for four decades were calculated by integrating the annual fluxes (Table 7a; steps 22–24).

Generally, groundwater inflow to the bay was thought to range from several percent to 10% of river water inflow (Taniguchi 2005). Dioxin congeners were water-insoluble and easily adsorbed

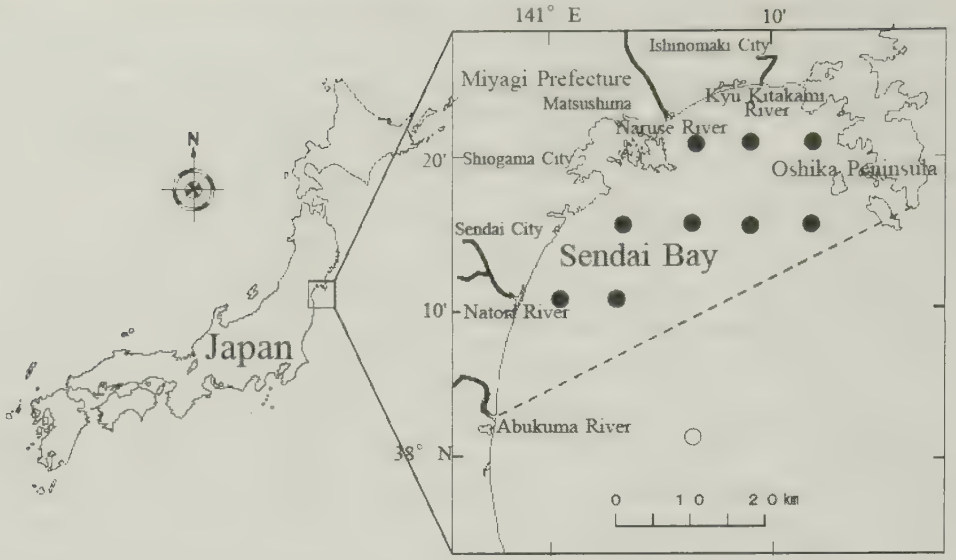


Fig. 26. Study area. Sendai Bay was defined as the area north of the dotted line extending from the tip of Osika Peninsula to the mouth of the Abukuma River. From this, the area of Sendai Bay was calculated as 1874 km^2. The symbols ● and ○ indicate the sampling sites within and outside of the bay, respectively, sampled as part of the oceanographic survey by Miyagi Prefecture Fisheries Technology Institute. In the box model used for this study, the vertical salinity data measured at each sampling site during the oceanographic survey were used to estimate discharge from Sendai Bay to offshore waters.

onto suspended solids (Brochu *et al.* 1995). As the concentrations of dissolved-phase dioxins were lower than those of suspended-phase dioxins (Kobayashi *et al.* 2004b), the inflow of dissolved-phase dioxins from groundwater to the bay was thought to be limited. In this study, dioxin fluxes from groundwater to the bay were ignored as being inconsequential.

5.1.3. Annual flux of the major pesticide dioxins in Sendai Bay

The total sedimentation of major pesticide dioxins to the bay bottom was determined by multiplying the area of Sendai Bay by the sedimentation rate and the concentration of major dioxins in surface sediments (Table 7a, steps 25–29). The total quantities of the major pesticide dioxins in seawater were determined by multiplying the seawater volume by the dioxin concentrations in seawater in Sendai Bay (Table 7b, steps 30–33). The volume of seawater was calculated from the area and maximum depth of Sendai Bay using the equation for the volume of a pyramid ([area × depth]/3).

5.1.4. Bioaccumulation of the major pesticide dioxins in commercially valuable fish, shellfish, and seaweeds

The Pacific oyster and the seaweeds *Porphyra yezoensis*, *Laminaria japonica*, and *Undaria pinnatifida* are raised in aquaculture operations in Sendai Bay, and almost all of the biomass of these organisms is harvested. The total quantities of the major pesticide dioxins in Pacific oysters and these seaweeds were calculated by multiplying the dioxin concentrations in each species by the total weight of the yearly harvest (Table 7b, steps 34–38 and 49–51). The total quantities in fish and crustaceans were calculated by multiplying the concentrations in each species by the annual harvest of that species, and by the ratio (w/w) of the total biomass of that species in the bay to the amount harvested (Table 7b-c, steps 39–48 and 52–71). The total bioaccumulations in fish, shellfish, and seaweeds of the commercial fisheries were calculated by adding together the values for each species (Table 7c, step 72).

5.1.5. Discharge from Sendai Bay to offshore waters

Discharge from Sendai Bay to waters further offshore was calculated by multiplying the outflow of seawater from the bay by the average concentrations of the major pesticide dioxins (Table 7a, step 32). The outflow of seawater was estimated by using the box model described by Unoki (1998). A schematic of the box model and parameters is shown in Figure 27. In the box model, the volumetric flows of seawater were calculated from the sum of the flow rates of the major rivers discharging into Sendai Bay (Kyu-Kitakami, Naruse, Natori, and Abukuma rivers) and the average salinity concentrations in each box of the model (Table 8). The flow rates for each river for 1999–2002 were obtained from published data (Japan River Association 2001, 2002, 2003, 2004); the salinity data for the stations shown in Figure 26 are unpublished (Miyagi Prefecture Fisheries Technology Institute).

The outflow of seawater (Q', m^3/s) from inshore to offshore in the upper layer of Sendai Bay was calculated as:

$$Q' = R \times S_4/(S_4 - S_1), \qquad (5.1)$$

where R is the sum of the flow rates (m^3/s) of the four major rivers, S_1 is the salinity (PSU) of the upper layer inshore, and S_4 is the salinity (PSU) of the lower layer offshore (Fig. 27).

5.2. Results

5.2.1. Dioxin flux in the terrestrial environment

The estimated total quantity of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD from CNP sources from 1966 to 1994 was 18.7 t, and that of OCDD from PCP sources from 1963 to 1985 was 12 t (Table 7a, steps 1 and 2; Fig. 28). Thus, the total amount of the major pesticide dioxins from CNP and PCP sources introduced into Miyagi Prefecture over the period when these pesticides were used was 30.7 t (Table 7a, step 3; Fig. 28). If the annual loss is 2% (Masunaga *et al.* 2001b; Table 7a), then the residual quantity in the terrestrial environment in 2002 was 17.4 t. Therefore, the quantity lost from the terrestrial environment was calculated as 13.3 t (30.7 t – 17.4 t). The discharge from major rivers into Sendai Bay from 1963 to 2002 was estimated to be 241 kg (Table 7a, step 24; Fig. 29).

If the total quantity of the major pesticide dioxins from CNP and PCP products shipped to Miyagi Prefecture is set to 100%, then as of 2002, 56.7% remained as residual dioxin in the terrestrial environment, and discharge from major rivers into Sendai Bay accounts for only 0.8% (Fig. 30).

5.2.2. Dioxin flux in the marine environment

The annual fluxes of major pesticide dioxins in the marine environment around 2002 were calculated as 3.0 kg/y settling to the bottom and 0.34 kg remaining in the seawater for steady-state (Table 7a, steps 29, and 33; Fig. 30). The total bioaccumulation in commercially valuable fish, shellfish, and seaweed in Sendai Bay is thus 3.2 g/y (Table 7c step 72; Fig. 30). The average discharge from Sendai Bay to offshore (outside of the bay) from 1999 to 2002 was calculated as 6.17 kg/y (Figs. 30 and 31). If the inputs to the bay from major rivers (7.7 kg/y) are set as 100%, then the amount discharged from the bay to offshore waters accounts for 80.1%, 39.0% settles to the sea bottom, 4.4% remains in seawater in the bay, and 0.04% is bioaccumulated in marine organisms in the bay (Fig. 30).

Thus, the estimated total flux in the marine environment (6.17 kg/y + 3.0 kg/y + 3.2 g/y = 9.17 kg/y) is overestimated by 1.47 kg/y (19%) in comparison with estimated inflows from major rivers to the bay (7.7 kg/y).

5.3. Discussion

5.3.1. Dioxin flux in the terrestrial environment

High dioxin levels have been detected in Japan, mainly in paddy fields (Kobayashi *et al.* 2004b, Kadota *et al.* 2007, Kiguchi *et al.* 2007). Although released dioxins as constituent of pesticide have been gradually removed from the field as results of decomposition, runoff and volatilization, the large part of the pesticide dioxins from CNP and PCP products shipped to Miyagi Prefecture was thought to remain as residual dioxins in the terrestrial environment (17.4 t; Table 7a, steps 3 and 4; Fig. 30). The estimates of dioxin flux show that only 0.8% (241 kg; Table 7a, step 24) of the residual dioxins in the terrestrial environment were transported to

Table 7a. Stepwise calculations for the quantities and fluxes of the major pesticide dioxins in Sendai Bay.

Parameter	Calculation	Value	Unit	Ref.	Step no.
Quantity in the regional environment of Miyagi Prefecture					
Total quantity of 1,3,6,8-, and 1,3,7,9-TeCDD in CNP sources from1966 to 1994		18.7	t	a, b	(1)
Total quantity of OCDD in PCP sources from 1963 to 1985		12.0	t	a, b	(2)
Sum of three dioxin congeners from CNP and PCP sources	(1)+(2)	30.7	t		(3)
Annual loss		2	%	c	
Residual quantity in 2002 assuming a 2% annual loss		17.4	t		(4)
Emission from major rivers to Sendai Bay					
Average annual flux of 1,3,6,8- and 1,3,7,9-TeCDD from four major rivers during 1999-2002		4.7	kg/y	e	(5)
Average annual flux of OCDD from four major rivers during 1999-2002		3.0	kg/y	e	(6)
Average annual flux of major pesticide dioxins from four major rivers during 1999-2002	(5)+(6)	7.7	kg/y	e	(7)
Concentration of 1,3,6,8- and 1,3,7,9-TeCDD relative to 1993-2002 concentrations calculated from historical trend in sediments					
(1993-2002)		1.000		b	(8)
(1986-1992)		1.313		b	(9)
(1982-1985)		0.863		b	(10)
(1976-1981)		0.718		b	(11)
(1971-1975)		0.566		b	(12)
(1967-1970)		0.544		b	(13)
(1966)		0.442		b	(14)
Concentration of OCDD relative to 1993-2002 concentrations calculated from historical trend in sediments					
(1993-2002)		1.000		b	(15)
(1986-1992)		1.017		b	(16)
(1982-1985)		0.629		b	(17)
(1976-1981)		0.656		b	(18)
(1971-1975)		0.398		b	(19)
(1967-1970)		0.647		b	(20)
(1963-1966)		0.462		b	(21)
Total flux of 1,3,6,8- and 1,3,7,9-TeCDD from four major rivers from 1966 to 2002 (5) × [(8) × 10y + (9) × 7y + (10) × 4y + (11) × 6y + (12) × 5y + (13) × 4y + (14) × 1y]		151	kg		(22)
Total flux of OCDD from four major rivers from 1963 to 2002 (6) × [(15) × 10y + (16) × 7y + (17) × 4y + (18) × 6y + (19) × 5y + (20) × 4y + (21) × 4y]		89	kg		(23)
Total flux of all major pesticide dioxins from four major rivers from 1963 to 2002	(22)+(23)	241	kg/40y		(24)
Dioxins settled to the bottom of Sendai Bay					
Area of Sendai Bay		1874	km^2		(25)
Average sedimentation rate		0.213	g dw/cm^2/y	b	(26)
Average annual sediment accumulation (25)×(26)×(100cm×1000m)^2		399.1	×10^{10}g dw/y		(27)
Average concentration of major pesticide dioxins in surface sediment which deposited from 1990s to 2002 in inshore		747.6	pg/g dw	b, f	(28)
Average annual quantity of major pesticide dioxins settling to the bay bottom	(27)×(28)×1000^{-5}(kg/pg)	3.0	kg/y		(29)

Table 7b. (continued)

Total dioxin quantity in seawater				
Maximum depth of Sendai Bay	50	m		(30)
Total seawater quantity in Sendai Bay				
$(25)\times(30)/3\times1000^2(m^2/km^2)\times100^3(cm^3/m^3)\times10^{-3}(L/cm^3)$	3123	$\times10^{10}$L		(31)
Average concentration of major dioxins in seawater collected from 1999 to 2002	11	pg/L	f	(32)
Average total quantity of major dioxins in seawater for steady-state				
$(31)\times(32)\times1000^{-5}(g/pg)$	**0.34**	**kg**		(33)
Bioaccumulation in Pacific oyster				
Average yearly harvest of Pacific oyster, 1984–2004	31765	t	g	(34)
(total wt − shell wt)/total wt	0.1		g	(35)
Average annual soft tissue harvest (total weight − shell weight) $(34)\times(35)$	3177	t		(36)
Average concentration of major dioxins in Pacific oyster tissue	650.4	pg/g ww	f	(37)
Average annual quantity of major dioxins in Pacific oyster				
$(36)\times(37)\times1000^2(g/t)\times1000^{-4}(g/pg)$	**2.1**	**g/y**		(38)
Bioaccumulation in anchovy				
Average yearly harvest of anchovy, 2003–2005	15221	t	g	(39)
Concentration of major dioxins in anchovy	6.4	pg/g ww	f	(40)
Average total quantity of major dioxins in the anchovy catch				
$(39)\times(40)\times1000^2(g/t)/1000^3(mg/pg)$	97	mg/y		(41)
Average ratio of total biomass to catch (w/w) of anchovy	4.2		h	(42)
Average annual quantity of major dioxins in anchovy biomass				
$(41)\times(42)$	**406**	**mg/y**		(43)
Bioaccumulation in sand lance				
Average yearly harvest of sand lance, 1989–2004	5012	t	g	(44)
Average concentration of major dioxins in sand lance	4.0	pg/g ww	f	(45)
Average total quantity of major dioxins in sand lance catch				
$(44)\times(45)\times1000^2(g/t)\times1000^{-3}(mg/pg)$	20	mg/y		(46)
Average ratio of total biomass to catch (w/w) of sand lance	3.6		i, j	(47)
Average annual quantity of dioxins in sand lance biomass				
$(46)\times(47)$	**72**	**mg/y**		(48)
Bioaccumulation in seaweeds				
Average yearly harvest of seaweeds, 1984–2004	23247	t/y	g	(49)
Average concentration of major dioxins in seaweeds	2.4	pg/g ww	f	(50)
Average annual quantity of major dioxins in seaweeds				
$(49)\times(50)\times1000^2(g/t)/1000^{-3}(mg/pg)$	**56**	**mg/y**		(51)
Bioaccumulation in marbled sole				
Average yearly harvest of marbled sole, 1998–2004	4105	t	g	(52)
Average concentration of major dioxins in marbled sole	5.62	pg/g ww	f	(53)
Average total quantity of major dioxins in the marbled sole catch				
$(52)\times(53)\times1000^2(g/t)\times1000^{-3}(mg/pg)$	23	mg/y		(54)
Average ratio of total biomass to catch (w/w) of marbled sole	2.1		h	(55)
Average annual quantity of major dioxins in marbled sole biomass				
$(54)\times(55)$	**49**	**mg/y**		(56)

Table 7c. (continued)

Bioaccumulation in crustaceans (shrimp and crab)				
Average yearly harvest of crustaceans, 1993–2004	312	t	g	(57)
Average concentration of major dioxins in shrimp	95.7	pg/g ww		(58)
Average total quantity of major dioxins in of crustaceans catch $(57)\times(58)\times1000^{2}(g/t)\times1000^{-3}(mg/pg)$	30	mg/y		(59)
Average ratio of total biomass to catch (w/w) of shrimp	1.3		k	(60)
Average annual quantity in crustacean biomass $(59)\times(60)$	**40**	**mg/y**		(61)
Bioaccumulation in Japanese flounder				
Average yearly harvest of Japanese flounder, 1998–2004	154	t	g	(62)
Average concentration of major dioxins in Japanese flounder	2.2	pg/g ww	l	(63)
Average total quantity in Japanese flounder catch from Sendai Bay $(62)\times(63)\times1000^{2}(g/t)\times1000^{-2}(\mu g/pg)$	345	μg/y		(64)
Average ratio of total biomass to catch (w/w) of Japanese flounder	2.1		h	(65)
Average annual quantity of major dioxins in Japanese flounder (64) × (65)	**726**	**μg/y**		(66)
Bioaccumulation in other fishes				
Average yearly harvest of other fishes, 1998–2004	33188	t	g	(67)
Average of major dioxin concentrations in anchovy, marbled sole, sand lance and Japanese flounder	4.6	pg/g ww	f, l	(68)
Average total quantity of major dioxins in catch of "other fishes" $(67)\times(68)\times1000^{2}(g/t)\times1000^{-3}(mg/pg)$	152	mg/y		(69)
Average of the ratio of total biomass to catch (w/w) for anchovy, marbled sole, sand lance, and flounder	3.2		h, i, j	(70)
Average annual quantity of major dioxins in biomass of other fishes $(69)\times(70)$	**492**	**mg/y**		(71)
Total bioaccumulation of major dioxins in commercially valuable fishes, shellfish, and seaweeds				
Average annual quantity in fishes, shellfish, and seaweeds $(38)+(43)+(48)+(51)+(56)+(61)+(66)+(71)$	**3.2**	**g/y**		(72)

References: a, Japan Plant Protection Association (1963–1995); b, Chapter 3 (this work); c, Masunaga et al. (2001b); d, Kadota et al. (2007); e, Chapter 4 (this work); f, Chapter 1 (this work); g, Tohoku Regional Agricultural Office (1987–2006); h, Fisheries Agency and Fisheries Research Agency of Japan (2001–2006); i, Ebe et al. (1991); j, Kobayashi et al. (1995); k, Sakaji (2002); l, Chapter 2 (this work)

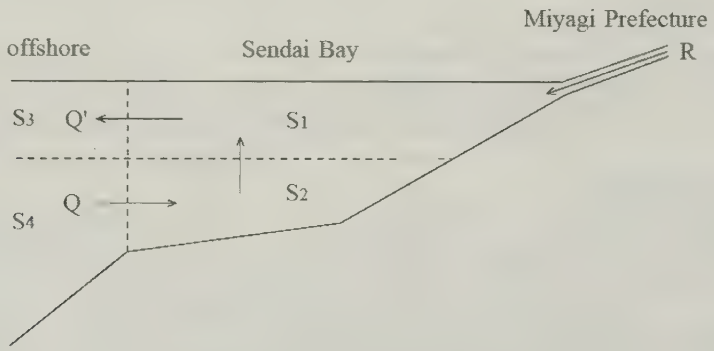


Fig. 27. Schematic of the box model used to estimate transport offshore from Sendai Bay. S_1 is the average of salinities from the surface and 5 m and 10 m depths at the nine sampling sites within the bay (Fig. 26, symbol ●). S_4 is the average salinity below 20 depth at an offshore sampling site (Fig. 26, symbol ○).

Table 8. Values for the parameters R (river inflow) and S_1 and S_4 (salinities) used in the box model, and the calculated flow offshore (Q').

	1999				2000			
	R (m^3/s)	S_1 (PSU)	S_4 (PSU)	Q' (m^3/s)	R (m^3/s)	S_1 (PSU)	S_4 (PSU)	Q' (m^3/s)
Jan	307.6	33.65	34.10	23053	425.9	33.57	34.27	20825
Feb	290.8	33.37	34.06	14396	356.1	33.63	33.89	46582
Mar	456.0	33.45	33.77	47877	447.7	33.58	33.87	52183
Apr	647.8	32.69	33.72	21112	823.0	33.04	33.64	46133
May	443.7	32.49	33.80	11467	626.8	30.84	33.32	8426
Jun	438.2	32.30	33.67	10762	436.7	31.64	33.48	7968
Jul	915.9	32.20	33.63	21593	645.3	31.21	33.58	9113
Aug	646.2	31.98	33.93	11268	436.5	32.02	33.57	9447
Sep	908.8	31.98	33.65	18227	671.3	32.96	33.79	27383
Oct	497.9	32.47	33.51	16050	425.1	32.75	33.43	20805
Nov	396.9	32.43	33.70	10520	433.3	32.90	33.55	22359
Dec	366.2	33.12	33.87	16482	392.3	32.94	33.81	15150

	2001				2002			
	R (m^3/s)	S_1 (PSU)	S_4 (PSU)	Q' (m^3/s)	R (m^3/s)	S_1 (PSU)	S_4 (PSU)	Q' (m^3/s)
Jan	297.5	32.96	33.98	9839	461.7	34.07	34.58	31100
Feb	274.4	33.42	34.02	15373	287.9	33.43	33.90	20680
Mar	388.7	32.92	33.69	16966	340.5	33.31	33.69	29808
Apr	376.0	32.25	33.15	13922	335.3	32.33	33.51	9480
May	277.7	32.30	33.29	9372	316.7	32.48	33.42	11286
Jun	381.6	32.27	33.36	11753	279.3	31.86	33.75	4988
Jul	310.8	31.75	33.52	5903	977.3	31.73	33.45	18984
Aug	425.1	32.89	33.53	22242	313.4	30.18	33.59	3093
Sep	581.2	32.01	33.76	11233	299.9	32.07	33.42	7460
Oct	469.7	32.63	33.49	18402	503.4	32.52	33.77	13525
Nov	264.8	32.75	33.42	13180	365.9	33.12	33.62	25003
Dec	234.1	33.13	33.91	10179	295.2	32.92	33.73	12198

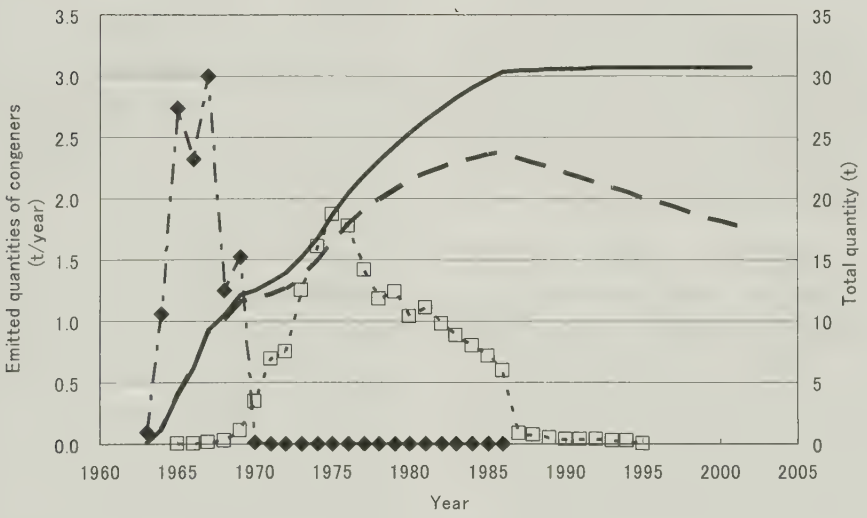


Fig. 28. Trends in the quantities of the major pesticide dioxins in Miyagi Prefecture. □, annual quantities of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD introduced into the prefecture, calculated by multiplying the amounts of CNP products shipped annually (Japan Plant Protection Association 1963-1995) by the cumulative 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD concentrations in CNP products each year (Masunaga et al., 2001a). ◆, annual quantities of OCDD introduced, similarly calculated from the annual shipments of PCP products (Japan Plant Protection Association 1963-1995) and the OCDD concentration in those products each year (Masunaga et al., 2001a). The solid line represents the cumulative quantity, and the dashed line is the cumulative quantity allowing for a 2% annual loss.

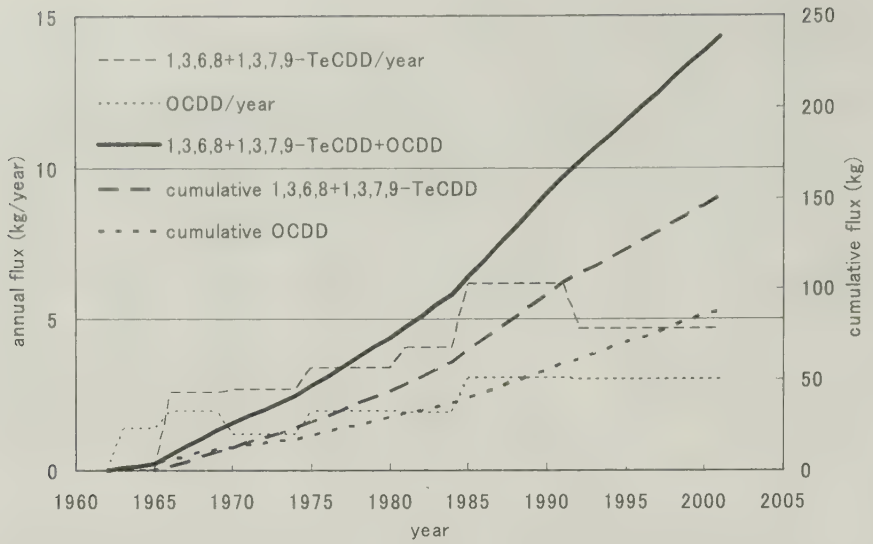


Fig. 29. Dioxin emissions from major rivers into Sendai Bay. The annual fluxes of the major pesticide dioxins were calculated from the average flux for 1999–2002 (7.7 kg/year; Table 7a, step 7) corrected in accordance with the historical trends of their concentrations in sediments (Table 7a, steps 8–21). The total flux over four decades was calculated by summing the annual fluxes.

Sendai Bay (Fig. 30). However, this transport is much higher than the values ranging from 0.0021% to 0.0031% which were published from the Ministry of the Environment Japan (Sampling sites have not been made public; the Ministry of the Environment of Japan 2002), so the dioxin emissions to Sendai Bay estimated in this study should not be considered low.

Concerning the estimated loss of dioxins (13.3 t), volatilization, which occurs during the spraying of the agricultural chemicals, is unlikely to be a major factor. The amount lost through emissions to Sendai Bay (241 kg) is slight in comparison with the total loss of 13.3 t. Therefore, the major loss of dioxins is thought to be through degradation, although the half-lives of dioxins were known to vary depending on the environment, from a few hundred days to hundreds of years (Claudia and Matsumura 1978, Kjeller and Rappe 1995, Masunaga *et al.* 2001b).

5.3.2. Dioxin flux in the marine environment

The annual average flow of dioxins from the major rivers to Sendai Bay from 1999 to 2002 was calculated as 7.7 kg/y (Table 7a, step 7; Fig. 30). The total bioaccumulation in commercially valuable fish, shellfish, and seaweed over the same period averaged 3.2 g/y. If the input from major rivers to the bay is set at 100%, then the bioaccumulation in these organisms accounts for only 0.04 % of the total (Fig. 30). This bioaccumulation was calculated only using fishery data (Tohoku Regional Agricultural Office 1987, 1988, ···2006) and non-fishery-targeted marine organisms were not considered. So the calculated bioaccumulation is thought to be an underestimate in comparison with the actual bioaccumulation. However, this indicates that very limited amount of pesticide origin dioxins move back from Sendai Bay to terrestrial areas as seafood for human. Even the calculation of dioxin bioaccumulation in marine organisms is underestimated, it appears to be much lower than the inputs from major rivers to the bay (7.7 kg/y), discharge from the bay to offshore waters (6.17 kg/y), and settling to the bay bottom (3.0 kg/y). In addition, 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD and OCDD were thought to bioaccumulate at lower rates than the other 2, 3, 7, 8-substituted PCDDs and PCBs (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997). This may be one of causes of very low bioaccumulation of pesticide origin dioxins in fishery products.

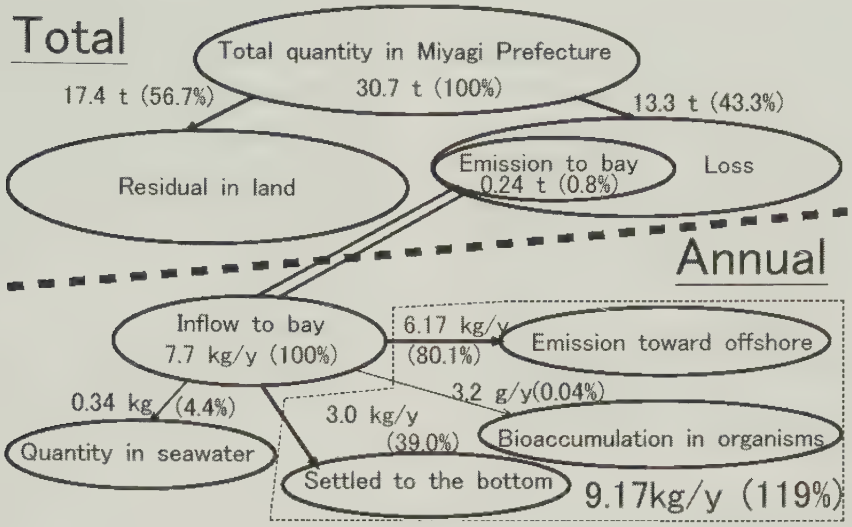


Fig. 30. Schematic diagram showing the total quantities and fluxes of the major pesticide dioxins in the terrestrial environment around Sendai Bay in 2002, and the estimated annual values for Sendai Bay.

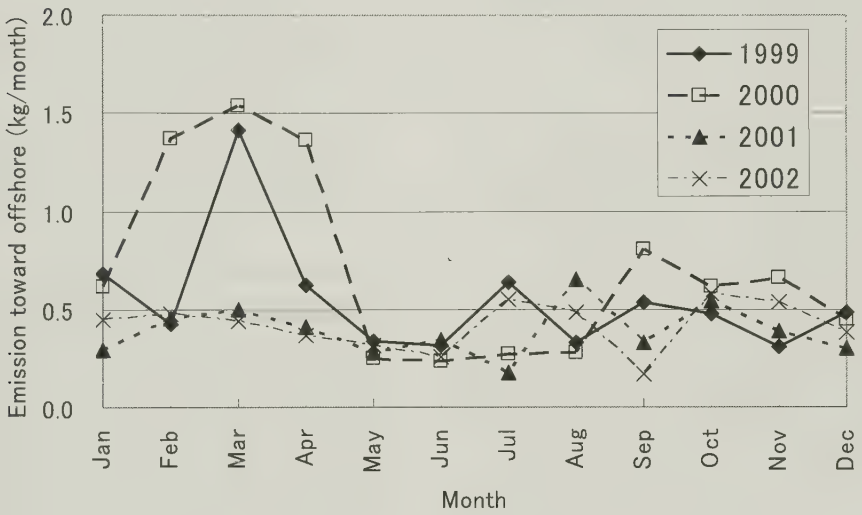


Fig. 31. The monthly discharge of major pesticide dioxins from Sendai Bay to waters offshore (outside of the bay) from 1999 to 2002 as calculated by a box model.

The estimated total flux in the marine environment (6.17 kg/y + 3.0 kg/y + 3.2 g/y = 9.17 kg/y) was larger than estimated inflows from the major rivers to the bay (7.7 kg/y). The seawater and sediment samples used to estimate these flux were collected mainly near the coast. Therefore, it is possible that the values of dioxin concentrations in seawater and sediments used in the flux calculations were higher than the average values of the whole study area (Fig. 26), and the values of dioxin discharge from the bay to offshore waters and settling to the bay bottom may be overestimates.

The estimated discharge of dioxins from the bay to offshore waters (6.17 kg/y) and settling to the bay bottom (3.0 kg/y) accounted for 64.9% and 31.6% of total flux in the marine environment (9.17 kg/y), respectively (Fig. 30); their sum accounted for 96.5% of the total flux. It appears that most of the dioxins carried by major rivers to the bay were discharged to offshore or settled to the bay bottom. It has been reported that 87.7% of PCBs were emitted to offshore waters from the Seto Inland Sea (Tanabe

and Tatsukawa 1981) and that 99.7% of PCBs in Tokyo Bay were likewise discharged into waters farther offshore (Yanagi and Hashimoto 2000). In contrast, 99% of the inflow of dioxins to Tokyo Bay was reported to settle on the bay bottom, whereas only 1% left the bay for offshore (Masunaga *et al.* 2006). Although the discharge of chemicals from inshore to waters farther offshore varies with the kind of chemical, the location, topography and the method of calculation, the value calculated for dioxin emissions from Sendai Bay to offshore waters falls in the middle of the range of other reported values.

Chapter 6. General discussion and summary

6.1. Properties of dioxins in Sendai Bay

The types of dioxin congeners are known to vary with the sources of emission (Czuczwa and Hites 1984, Kannan *et al.* 1987, Rappe *et al.* 1989, Sakai *et al.* 1993, Schrann *et al.* 1995, Takasuga *et al.* 1995, Lohmann and Jones 1998, Verta *et al.* 1999, 2003, 2007, Isosaari *et al.* 2000, 2002, Masunaga *et al.* 2001a, Yao *et al.* 2002, Seike *et al.* 2003, Hashimoto 2004, Kakimoto *et al.* 2006). In Sendai Bay, 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD which are the impurities in CNP and OCDD in PCP (Masunaga *et al.* 2001a, Seike *et al.* 2003), were the predominant congeners in seawater and sediment (Chapter 2.1). The chlorinated herbicides used in paddy fields were inferred to be the major dioxin sources.

6.2. Properties of bioaccumulation of dioxins to marine organisms

The bioaccumulation of dioxins in aquatic organisms is known to vary with the kinds of dioxin congeners (Sijm *et al.* 1993, Yamada 1997a). 1,3,6,8- and 1,3,7,9-TeCDD, and OCDD, which are predominant congeners in Sendai Bay and belong to PCDD, were of the type showing low bioaccumulation in fishes. PCDD/F concentrations in the higher-trophic-level fishes tended to be lower than those in the lower-trophic-level fishes (Chapter 2.1).

In contrast, PCDD/F concentrations in the higher-trophic-level invertebrates tended to be higher than those in the lower-trophic-level invertebrates. The bioaccumulation properties of dioxins in invertebrates are different from those in fishes, as the bioaccumulation in invertebrates may be influenced more by the number of chlorine substituents in PCDD/F homologues than by differences in structure (such as 2,3,7,8-substituted PCDD/Fs vs. non 2,3,7,8-substituted PCDD/Fs).

Co-PCBs are known to show higher bioaccumulation than PCDD/Fs (Niimi 1996), and organisms at higher trophic levels in Sendai Bay had higher Co-PCB concentrations (Chapter 2.1). Co-PCB concentrations in environmental samples were lower than concentrations of PCDD/Fs from CNP and PCP sources; however, monitoring of Co-PCBs in Sendai Bay is probably more important than monitoring of PCDD/Fs because of their high toxicity (TEQs) and high bioaccumulation nature.

The bioaccumulation of chemicals is known to vary with the body size of aquatic organisms (Schimmel *et al.* 1977, Yamada *et al.* 1995). In Japanese flounder, the total PCDD/F concentrations were not correlated with body length, whereas the total non-*ortho* PCB and total mono-*ortho* PCB concentrations were significantly correlated with total body length (Chapter 2.2). The bioaccumulation properties of PCDD/Fs in Japanese flounder differed from those of Co-PCBs. Although the concentrations of non-*ortho* PCBs were lower than those of mono-*ortho* PCBs, the toxic equivalent (TEQ) value for non-*ortho* PCBs was higher than that for mono-*ortho* PCBs. The TEQ value for non-*ortho* PCBs increased more with increasing body length than did the values for PCDDs, PCDFs, and mono-*ortho* PCBs. These results show that from the standpoint of risk management, non-*ortho* Co-PCBs are the most important dioxins in Japanese flounder.

6.3. Historical trend of dioxins in sediment cores from Sendai Bay

Historical trends in dioxin levels have been investigated using sediment cores from throughout the world (Czuczwa and Hites 1984, Sakai *et al.* 1999, Masunaga *et al.* 2001b, Kubota *et al.* 2002, Yao *et al.* 2002). In Sendai Bay, 1, 3, 6, 8-TeCDD + 1, 3, 7, 9-TeCDD, OCDD, and Co-PCB concentrations in sediment increased from the mid-1930s and then reached a maximum in the mid-1980s (Chapter 3). Data from these cores support the conclusion that

over long periods of time, the major sources of dioxins in Sendai Bay were CNP and PCP. The times of peak shipments of CNP (1975) and PCP (1970) in Miyagi Prefecture (Japan Plant Protection Association 1963–1995), and of Co-PCBs in Japan (1970; Tatsukawa 1972) did not coincide with the peaks in concentration of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD, OCDD, or Co-PCBs in the sediment cores, which lagged by more than 10 years. The lack of correspondence between maximum concentrations in the sediments and the time of maximum use of CNP, PCP, and PCB products may be due to a lower outflow of dioxins from land to the bay in comparison with the total amount of these products used in Miyagi Prefecture.

6.4. Discharge of dioxins from terrestrial to marine environments

Dioxin congeners from CNP and PCP sources were detected in paddy soil and river water (Kobayashi *et al.* 2004a, Kadota *et al.* 2007, Kiguchi *et al.* 2007). It was clear from statistical analyses by PCA and CMB that CNP and PCP were major sources of dioxins in rivers in Miyagi Prefecture (Chapter 4). Dioxin congeners are transported from paddy fields adsorbed on suspended solids into rivers (Kobayashi *et al.* 2004b, Kadota *et al.* 2007). Concentrations of 1, 3, 6, 8- and 1, 3, 7, 9-TeCDD and suspended solids in river water increased with increasing flow rates. During periods of high flow, dioxin concentrations may have increased because of resuspension of bottom sediments that had adsorbed dioxins. Dioxin fluxes from rivers to the bay also increased with increasing river flow.

6.5. Mass balance of major dioxin congeners from impurities in pesticides used in Miyagi Prefecture

Several reports address the mass balance of dioxins in marine environments (Tanabe and Tatsukawa 1981, Yanagi and Hashimoto 2000, Masunaga *et al.* 2006). In the present study, the mass balance was analyzed for Sendai Bay, which is an important area for fisheries and aquaculture (Chapter 5). Large quantities of dioxins from CNP and PCP sources were introduced into the terrestrial environment. As the rivers and drainage ditches acted as transport bottlenecks, their inflow from the terrestrial environment to Sendai Bay was limited. The bulk of dioxins from CNP and PCP sources remained in the terrestrial environment.

Almost all dioxins entering Sendai Bay either flowed out of the bay or settled to the bay bottom. The amount that bioaccumulated in marine organisms was much less than the amount inflowing from the terrestrial environment to the bay. The major dioxin congeners from impurities in CNP and PCP have much lower toxicities and bioaccumulation rates in marine organisms than low-chlorine 2, 3, 7, 8-substituted PCDD/Fs such as 2, 3, 7, 8-TeCDD, which has an extremely high TEF. Therefore, although the influx of dioxins of CNP and PCP origin to Sendai Bay will continue in the future, their bioaccumulation in marine organisms in Sendai Bay will not be a serious problem for fisheries resources.

Acknowledgements

I would like to express my sincere gratitude to my supervisor, Professor Yoh Yamashita, Kyoto University, Field Science Education and Research Center, for his guidance and encouragement during this work.

I am also very grateful to Professor Tateki Fujiwara, Kyoto University, Graduate School of Agriculture, and Professor Takahito Yoshioka, Kyoto University, Field Science Education and Research Center, for their kindness in reading this manuscript and making many helpful suggestions.

I extend my sincere thanks to Dr. Hisashi Yamada, Research Fellow of Fisheries Research Agency (former General Director of the National Research Institute of Fisheries Sciences), for his helpful comments on this study.

I am grateful to Dr. Youichi Kohno, Japan Food Research Laboratories, and Dr. Hiromitsu Nagasaka, IDEA Consultants, Inc., for several analyses.

I also thank Dr. Yukimasa Ishida, General Director of Tohoku National Fisheries Research Institute, for his encouragement during this work. In addition, I thank my co-workers at Tohoku National Fisheries Research Institute for their help with sample collections.

References

Agricultural Chemicals Inspection Station, 2007: Report regarding permission of agrochemicals. http://www.acis.famic.go.jp/toroku/sikkouseibun.htm (in Japanese).

Allinson G., Ueoka M. and Morita M., 1993: Effect of dietary 1, 3, 6, 8- tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin on the Japanese freshwater fish *Oryzias latipes* (Medaka) and aquatic snail *Indoplanorbis exustus* (Indohiramakigai). *Chemosphere*, **28**, 1369–1383.

Anezaki K., Yamaguchi K., Natsume S., Iwate R. and Hashimoto S., 2007: Estimation of PCB sources using statistical methods. *Japan Soc. Anal. Chem.*, **56**, 639–648 (in Japanese).

Birmingham B., Gilman A., Gant D., Salmineb J., Boddington M., Thorpe B., While I., Toft P. and Armstrong V., 1989: PCDD/PCDF multimedia exposure analysis for the Canadian population: Detailed exposure estimation, Chemosphere, **19**, 637–642.

Booker S. M., 2001: Dioxin in Vietnam: fighting a legacy of war. Environ. *Health Perspective*, **109**, A116–A117.

Brochu C., Moore S. and Pelletier E., 1995: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in sediments and biota of the Saguenay Fjord and the St Lawrence Estuary. *Mar. Poll. Bull.*, **30**, 515–523.

Broman D., Naf C., Rolff C., Zebuhr Y., Fry B. and Hobbie J., 1992: Using ratios of stable nitrogen isotopes to estimate bioaccumulation and flux of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in two food chains from the Northern Baltic. *Environ. Toxicol. Chem.*, **11**, 331–345.

Claudia T. W. and Matsumura F., 1978: Fate of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in a model aquatic environment. Arch. *Environ. Contam. Toxicol.*, **7**, 349–357.

Coulter C.T., 2004: EPA-CMB8.2 Users Manual, EPA-452/R-04-011 (http://www.epa.gov/scram001/models/receptor/EPA-CMB82Manual.pdf).

Czuczwa J.M. and Hites R.A., 1984: Environmental fate of combustion-generated polychlorinated dioxins and furans. Environ. *Sci. Technol.*, **18**, 444–450.

Czuczwa J.M., Niessen F. and Hites R.A., 1985: Historical record of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in Swiss Lake sediments. *Chemosphere*, **14**, 1175–1179.

Devillers J., Bintein S. and Domine D., 1996: Comparison of BCF models based on log P. *Chemosphere*, **33**, 1047–1065.

Ebe K., Tachibana K., Hirakawa H. and Ishida T., 1991: Trend in stock of sand lance in the coastal of Fukushima. *Bull. Fukushima Pref. Fish. Exp. Stn.*, **7**, 141–146 (in Japanese).

Evers E.H.G., Klamer H.J.C. Laane R.W.P.M. and Govers A.J., 1993: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin and dibenzofurans residues in estuarine and coastal north sea sediments: sources and distribution. *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**, 1583–1598.

Fauchald K. and Jumars P.A., 1979: The diet of worms: Astudy of polychaete feeding guilds. Oceanogr. Mar. *Biol. Ann. Rev.*, **17**, 193–284.

Fisheries Agency, Japan, 2000a: Daiokishinruino-Gyokairuikarano-Sesyuryo nitsuite, Press release. http://www.jfa.maff.go.jp/rerys/12.02.04.1.html (in Japanese).

Fisheries Agency, Japan, 2000b: Heisei 11nendo-Gyokairuityuno-Daiokishinrui no-Jittai tyosa kekka nitsuite, Press release. http://www.jfa.maff.go.jp/rerys/12. 10. 25. 1.html (in Japanese).

Fisheries Agency and Fisheries Research Agency of Japan, 2001–2006: Marine Fisheries stock assessment and evolution for Japanese waters. http://abchan.job.affrc.go.jp/ (in Japanese).

Fisheries Agency Japan, 2003: A report on dioxins in fish and shellfish from 1999 to 2002. http://www.jfa.maff.go.jp/release/20030627press_11.htm (in Japanese).

Fisk A.T., Hobson K.A. and Norstrom R.J., 2001: Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutions in the Northwater Polynya marine food web. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 732–738.

Foundation for Promoting Personal Mobility and Ecological Transportation 2001: The investigation of dioxins in ports. Tokyo, 93pp, (in Japanese).

Gotz R., Friesel P., Roch K., Papke O., Ball M., Lis

A., 1993: Polychlorinated-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and other chlorinated compounds in the River Elbe: Results on bottom sediments and fresh sediments collected in sedimentation chambers. *Chemosphere*, **27**, 105-111.

Guruge K. S. and Tanabe S., 2004: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like biphenyls in biota from Sri Lankan coast. Mar. *Pollut. Bull.*, **48**, 1004-1008.

Handa N. and Ohta, K., 1983: Sedimentary record of polycyclic aromatic hydrocarbon pollution in Tokyo Bay. *Geochemical J.*, **16**, 60-67 (in Japanese).

Hashimoto S., Wakimoto T. and Tatsukawa R., 1990: PCDDs in the sediments accumulated about 8120 years ago from Japanese coastal areas. *Chemosphere*, **20**, 825-835.

Hashimoto S. and Morita M. 1995: Analysis of PCDDs, PCDFs, planar and other PCBs in seaweed from Japanese coast. *Chemosphere*, **31**, 3887-3897.

Hashimoto S., Hyeon-Seo C. and Morita M., 1998: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans in shellfishes from south coast of Korea. *Chemosphere*, **37**, 951-959.

Hashimoto S., Horiguchi T., Shibata Y. and Morita M., 1999: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in invertebrate animals from a rural beach in Japan. *Chemosphere*, **39**, 2661-2669.

Hashimoto S., 2004: Basic study on estimation of dioxin sources using statistical methods. J. *Environ. Chem.*, **14**, 263-285 (in Japanese with English abstract).

Hattori Y., Shimizu T., Kishida M., Kamada A., Takahashi K., Tamura T., Uebori M. and Yamamoto. H., 2004: Distribution and characterization for dioxins in river water and sediment of Osaka Prefecture. *J.Environ. Chem.*, **14**, 575-585 (in Japanese).

Hayakari S. and Hanaishi R., 2001: Introduction of spreadsheet application macros for environmental data analysis and analytical example (II) -Macro for CMB Analysis-. *J. Jpn. Atoms. Environ.*, **36**, 39-45 (in Japanese).

Hoshika A., Shiozawa T. and Matsumoto E., 1983: Sedimentation rate and heavy metal pollution in sediments in Harima Nada (Harima Sound), Seto Inland Sea. *J.Oceanogr.*, **39**, 82-87 (in Japanese).

Iimura F., Sasaki Y., Tsukui T., Yoshioka H., Higashino K., Takeda Y. and Kasai K., 2002: Contamination of dioxins and PCBs in fish in Tokyo Bay. *J. Environ. Chem.*, **12**, 343-352.

Ikeda K., Minani T., Yamada H. and Koyama J., 2002: bioaccumulation of organotin compounds through the food web developed in the deep water of Japan Sea. *J. Environ. Chem.*, **12**, 105-114 (in Japanese).

Ikematsu W., 1963: Ecological studies on the fauna of Macrura and Mysidacea in the Ariake Sea. Bull. *Seikai Fish. Res. Lab.*, **30**, 1-124 (in Japanese).

Isosaari P., Kohonen T., Kiviranta H., Tuomisto H. and Vartiainen T., 2000: Assessment of levels, distribution, and risks of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in the vicinity of a vinyl chloride monomer production plant. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 2684-2689.

Isosaari P., Kankaanpaa H., Mattila J., Kiviranta H., Verta M., Salo S. and Vartianen T., 2002: Spatial distribution and temporal accumulation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in the Gulf of Finland. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 2560-2565.

Japan Environmental Safety Corporation, 2004: PCB waste treatment program. http://www.jesconet.co.jp/business/scheme/index.html (in Japanese).

Japan Industrial Standard Committee, 1999a: Test method for density of soil particles. JISA1202.

Japan Industrial Standard Committee, 1999b: Test method for water content of soils. JISA1203.

Japan Industrial Standard Committee, 2000: Test method for ignition loss of soils. JISA1226.

Japan Meteorological Agency, 2002: http://www.jma.go.jp/jma/indexe.html.

Japan Plant Protection Association, 1963-1995: The shipments of agricultural chemicals, in Japan Plant Protection Association (ed.), Agricultural chemicals handbook, Tokyo, Japan (in Japanese).

Japan River Association, 2001-2004: Daily Discharge Tables, In: River Bureau. Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Japan (Ed.),

Discharge Tables 2000-2002, Tokyo Japan (in Japanese).

Juttner I., Henkelmann B., Steinberg C.E.W., Winkler R. and Kettrup, A., 1997: Occurrence of PCDD/F in dated lake sediments of the black forest, Southwestern Germany. *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 806-812.

Kadota Y., Kawano M., Matsuda M. and Wakimoto T., 2007: The outflow properties of PCDD/DFs in ricefield. 1. The relationship between discharged paddy soil particle and PCDD/DFs. *J. Environ. Chem.*, **17**, 185-195 (in Japanese with English abstract).

Kakimoto H., Oka H., Miyata Y., Yonezawa Y., Niikawa A., Kyudo H., Tang N., Toriba A., Kizu R. and Hayakawa K., 2006: Homologue and isomer distribution of dioxins observed in water samples collected from Kahokugata Lagoon and inflowing rivers, Japan. *Wat. Res.*, **40**, 1929-1940.

Kanai Y., Inouchi Y., Yamamuro M., and Tokuoka T., 1997: Sedimentation rate and environment in Lake Shinji, Shimane Prefecture. *Geochemistry*, **32**, 71-85 (in Japanese).

Kannan N., Tanabe S., Wakimoto T. and Tatsukawa R., 1987: A simple method for determining non-ortho PCB substituted PCBs in Kanechlors, Aroclors and environmental samples, Chemosphere, **16**, 1631-1634.

Kannan N., Tanabe S. and Tatsukawa R., 1989: Persistency of highly toxic coplanar PCBs in aquatic ecosystem: uptake and release kinetics of coplanar PCBs in green-lipped mussels (Perna virids Linnaeus). *Environ. Poll.*, **56**, 65-76.

Kannan K., Villeneuve D. L., Yamashita N., Imagawa T., Hashimoto S., Miyazaki A. and Giesy, J. P., 2000: Vertical profiles of dioxin-like and estrogenic activities associated with a sediment core from Tokyo Bay, Japan. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3568-3573.

Kashiwagi N., Yoshizawa T., Ibaraki T., Kato K., Hashimoto A. and Sasaki Y., 2006: Estimation of contribution of unidentified sources to environmental concentration. *Proceedings Inst. Statistical Math.*, **54**, 123-146 (in Japanese with English abstract).

Kato K., Nakamura T., Hishinuma S., Suzuki S., Saito Y., Hashimoto S. and Kashiwagi N., 2005: Study on estimation of dioxin source II (case of estimation in Miyagi). *Annual report of Miyagi Prefecture Institute of Public Health and Environment*, **23**, 65-67 (in Japanese).

Kiguchi O., Kobayashi T., Wada Y., Saitoh K. and Ogawa N., 2007: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in paddy soils and river sediments in Akita, Japan. *Chemosphere*, **67**, 557-573.

Kim J.G., Suzuki N., Masunaga S., Nakanishi J., 1996: Concentrations and biota-sediment accumulations of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in fish and shrimp from Lake Kasumigaura. *J. Environ. Chem.*, **6**, 541-549.

Kim K. S., Hirai Y., Kato M., Urano K. and Masunaga S., 2004: Detailed PCB congener patterns in incinerator flue gas and commercial PCB formulations (Kanechlor). *Chemosphere*, **55**, 539-553.

Kitagawa D., Ishito Y., Sakurai Y., Fukunaga T., 1994: Age, growth and maturation of the Japanese Flounder Paralichthys olivaceus in coastal waters of the Northern Sanriku District. *Tohoku Natl. Fish. Res. Inst.*, **56**, 69-76 (in Japanese).

Kjeller L.O. and Rappe C., 1995: Time trends in levels, patterns, and profiles for polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls in a sediment core from the Baltic Proper. *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 346-355.

Kobayashi N., Nagashima H., Kodama J., Kikuchi Y., Kobayashi I. and Sato, K., 1995: Study on the ecology and resource of the sandeel, Ammodytes personatus Girard, in Sendai Bay (in Japanese). *Bull. Miyagi. Pref. Fish. Res. Dev. Center*, **14**, 37-49.

Kobayashi N., Masunaga S. and Nakanishi J., 2003: Source identification and behavior of PCDD/Fs and dioxin-like PCBs in Japanese river water. *J. Japan Soc. Wat. Environ.*, **26**, 655-662 (in Japanese with English abstract).

Kobayashi J., Kajiwara H. and Takahashi Y., 2004a: Behavior and mass balance of PCDD/Fs and herbicides in paddy fields. *J. Environ. Chem.*, **14**, 109-120 (in Japanese with English abstract).

Kobayashi N., Masunaga S. and Nakanishi J., 2004b: Transportation and sources of dioxin and dioxin-like PCBs in rivers flowing into Tokyo Bay. J. *Jpn. Soc. Wat. Environ.*, **27**, 465-472 (in Japanese with English abstract).

Koistinen J., Paasivirta J. and Lahtipera M., 1993: Bioaccumulation of dioxins, coplanar PCBs, PCFEs, HxCNs, R-PCNs, R-PCPHs and R-PCBBs in fish from a pulp-mill recipient watercourse. *Chemosphere*, **27**, 149-156.

Kubota A., Someya M., Watanabe M. and Tanabe S., 2002: Contamination status of PCBs (including coplanar congeners), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in sediments from Uwa Sea, Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **68**, 695-700 (in Japanese).

Kumar K.S., Kannan K., Paramasivan O.N., Sundaram V.P.S., Nakanishi J., and Masunaga S. ,2001: Polychlorinated Dibenzo-*p*-Dioxins, Dibenzofurans, and Polychlorinated Biphenyls in Human Tissues, Meat, Fish, and Wildlife Samples from India. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 3448-3455.

Kurokawa Y., Matsueda T., Osaki Y., Nakamura M., Takata S. and Fukumachi K. 1994: Concentration and characteristics of non-*ortho* coplanar PCBs in the atmosphere. *J. Environ. Chem.*, **4**, 29-38 (in Japanese).

Kurtz F., Barnes D.G., Bottimore D.P., Greim H. and Bretthauer E.W., 1990: The international toxicity equivalency factor (I-TEF) method of risk assessment for complex mixtures of dioxins and related compounds. *Chemosphere*, **20**, 751-757.

Ling Y. C., Soong D.K. and Lee M.K., 1995: PCDD/DFs and coplanar PCBs in sediment and fish samples from the Er-Jen River in Taiwan. *Chemosphere*, **31**, 2863-5872.

Lohmann R. and Jones K.C., 1998: Dioxins and furans in air and deposition: a review of levels, behavior and processes. *Sci. Total. Environ.*, **219**, 53-81.

Masunaga S., Sakurai T., Kim J.G., Suzuki N. and Nakanishi J., 1997: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in sediment, soil, and biological samples from Lake Kasumigaura area. *Bull. Inst. Environ. Sci. Technol., Yokohama Natl. Univ.*, **23**, 1-12 (in Japanese).

Masunaga S., Sakurai T. and Nakanishi J., 1998: Dioxin mass balances in Tokyo Bay and Kasumigaura Lake basin. *Bull. Inst. Environ. Sci. Technol., Yokohama Natl. Univ.*, **24**, 1-10 (in Japanese with English abstract).

Masunaga S., 2000: Comprehensive analysis of dioxin and co-PCB behavior in Lake Shinji Basin. Proc. Third International Workshop on Risk Evaluation and Management of Chemicals. *Yokohama, Japan, January 2000*, pp. 80-93.

Masunaga S., Takasuga T. and Nakanishi J., 2001a: Dioxin and dioxin-like PCB impurities in some Japanese agrochemical formulations. *Chemosphere*, **44**, 873-885.

Masunaga S., Yao Y., Ogura I., Nakai S., Kanai Y., Yamamuro M. and Nakanishi J., 2001b: Identifying sources and mass balance of dioxin pollution in Lake Shinji Basin, Japan. *Environ Sci Technol.*, **35**, 1967-1973.

Masunaga S., Nakanishi J. and Kameda Y., 2006: Dioxins in Tokyo Bay: Its environmental behavior and ecological risk assessment to birds. http://bio-eco.eis.ynu.ac.jp/jpn/database/report/masunaga.pdf (in Japanese with English abstract).

Mato Y., Suzuki N., Katani N., Kadokami K., Nakano T., Nakayama S., Seki. H., Komoto S., Miyake S. and Morita M., 2007: Human intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin like PCBs in Japan, 2001 and 2002. *Chemosphere*, **67**, S247-S255.

Matsumoto E. and Yokota S., 1978: Accumulation rate and heavy metal pollution in Osaka Bay sediments. *J. Oceanogr.*, **34**, 108-115 (in Japanese).

Matsumoto E. 1983: The sedimentary environment in Tokyo Bay. *Geochemistry*, **17**, 27-32 (in Japanese).

Matsumoto E., 1986: The measurement of sedimentation rate in sediments. In "The manual of investigation of the coastal environment" (ed. The Oceanographic Society of Japan), pp. 37-42 (in Japanese).

Miller M. M. and Waslk S. P., 1985: Relationships between Octanol-Water Partition Coefficient and Aqueous Solubility. *Environ. Sci. Technol.*, **19**,

522–529.

Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, 2010: Cultivated paddy field acreage in Miyagi Prefecture. http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sityo_tyouki/kouti/k4.html (in Japanese).

Ministry of Health, Labour and Welfare, 1999: Heisei 10nendo syokuhintyuno daiokishin osen jittai tyosa kekka nitsuite. http://www1.mhlw.go.jp/topics/dioxin_13/tds.html (in Japanese).

Ministry of Health, Labour and Welfare, 2007: Heisei 18nendo syokuhintyuno daiokishin osen jittai tyosa kekka nitsuite. http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/ dioxin/sessyu06/index.html (in Japanese).

Ministry of Internal Affairs and Communications, Japan, 1999: The law concerning special measures against dioxins. http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H11/H11HO105.html (in Japanese).

Ministry of Internal Affairs and Communications, Japan, 2005: Special law concerning adequate disposal of PCB. http://law.e-gov.go.jp/htmldata/H13/H13HO065.html (in Japanese).

Ministry of Internal Affairs and Communications, Japan, 2010: Chemical Substances Control Law. http://law.e-gov.go.jp/htmldata/S48/S48HO117.html (in Japanese).

Ministry of Land, Infrastructure and Transport, Government of Japan, 2001: The investigation of endocrine disrupting chemicals in ports. (ed. Waterfront Vitalization and Environment Research Center), Tokyo, 259pp (in Japanese).

Ministry of the Environment, Japan, 1996-2005: Chemicals in the Environment. http://www.env.go.jp/chemi/kurohon/index.html (in Japanese).

Ministry of the Environment, 1998a: The manual of the investigation of dioxins in water, Tokyo (in Japanese).

Ministry of the Environment, 1998b: The manual of the investigation of dioxins in aquatic organisms, Tokyo (in Japanese).

Ministry of the Environment, Japan, 1999: Tolerable Daily Intake. http://www.env.go.jp/chemi/dioxin/report/TDI/gaiyo.html (in Japanese).

Ministry of the Environment, Japan, 2000a: What are dioxins? http://www.erc.pref.fukui.jp/news/d00.html (in Japanese).

Ministry of the Environment, 2000b: The manual of the investigation of dioxins in sediments, Tokyo (in Japanese).

Ministry of the Environment, Japan, 2002: Emissions of dioxins from paddy fields and other farm fields. http://www.env.go.jp/water/dojo/sui-diox/13sui-dio.pdf (in Japanese).

Ministry of the Environment, Japan, 2005: Inventory of dioxin emissions. http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=6584 (in Japanese).

Ministry of the Environment, Japan, 2007: The law concerning the evaluation of chemical substances and regulation of their manufacture, etc. (Chemical Substances Control Law). http://www.env.go.jp/chemi/kagaku/index.html (in Japanese).

Mitani I., 1988: Food habits of Japanese anchovy in the Shirasu fishing ground within Sagami Bay (in Japanese). *Nippon Suisan Gakkaishi*, **54**, 1859–1865.

Mocarelli P., Patterson D. G. Jr., Marocchi A. and Needham L. L., 1990: Pilot study (Phase II) for determining polychlorinated dibenzo-p-dioxin (PCDD) and polychlorinated dibenzofuran (PCDF) levels in serum of Seveso, Italy residents collected at the time of exposure: Future plans. *Chemosphere*, **20**. 967–974.

Mocarelli P., Brambilla P., Gerthoux P.M., Patterson D.G.Jr. and Needham L.L., 1996: Change in sex ratio with exposure to dioxin. *Lancet*, 348, 409.

Morita M., 1991: Dioxins, their chemistry and toxic effects. *Jpn. Tappi J.*, **45**, 887–901.

Motoda S., 1994: An estimation of primary and secondary production of the coral reef areas in Palau, Western Caroline Islands. Rep. Akajima *Mar. Sci. Lab.*, **5**, 5–8.

Muir D.C.G., Marshall W.K. and Webster G.R.B., 1985: Bioconcentration of PCDDs by fish: effects of molecular structure and water chemistry. *Chemosphere*, **14**, 829–833.

Muir D.C.G. and Yarechewski A.L., 1988: Dietary accumulation of four chlorinated dioxin congeners by rainbow trout and fathead minnows. *Environ. Toxicol. Chem.*, **7**, 227–236.

Naito W., Jin J., Kang Y., Yamamuro M., Masunaga S., Nakanishi J., 2003: Dynamics of PCDDs/DFs and coplanar-PCBs in an aquatic food chain of Tokyo Bay. *Chemosphere*, **53**, 347–362.

Nakatani T., 2006: Dioxins (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and coplanar PCBs) in human milk. *Seikatsu Eisei*, **50**, 185–196.

Niimi A.J., 1996: Evaluation of PCBs and PCDD/Fs retention by aquatic organisms. *Sci. Total Environ.*, **192**, 123–150.

Ochiai A., 1966: Paralichthys olivaceus. in" Gyoruigaku"(eds. Matsubara, K., Ochiai, A.), Kouseisha Kouseikaku, Tokyo, pp. 911–913 (in Japanese).

Omori M., 1974: On the production ecology of the flatfish, Limanda yokohamae – I Feeding habit and distribution. *Bull. Jpn. Sci. Fish.*, **40**, 1115–1126 (in Japanese).

Opperhuizen A., Sijm D.T.H.M., 1990: Bioaccumulation and biotransformation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, **9**, 175–186.

Owens J.W., Swanson S.M. and Birkholz D.A., 1994: Bioaccumulation of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzofuran and extractable organic chlorine at a bleached-kraft mill site in a northern Canadian river system. *Environ. Toxicol. Chem.*, **13**, 343–354.

Prime Minister of Japan and His Cabinet, 2007: A summary of projects related to dioxins and endocrine disrupters in the environment. http://www.kantei.go.jp/jp/mille/daiokisin/index.html (in Japanese).

Rappe C., Andersson R., Bergqvist P.A., Brohede C., Hansson M., Kjeller L.O., Lindstrom G., Marklund S., Nygren M., Swanson S.E., Tysklind M. and Wiberg K., 1987: Overview on environmental fate of chlorinated dioxins and dibenzofurans. Sources, levels and isomeric pattern in various matrices, *Chemosphere*, **16**, 1603–1618.

Rappe C., Bergqvist P.A. and Kjeller L.O., 1989: Levels, trends, and patterns of PCDDs and PCDFs in Scandinavian environmental samples. *Chemosphere*, **18**, 651–658.

Rappe C., Bergqvist P.A., Kjeller L.O. and Swanson S., 1991: Levels and patterns of PCDD and PCDF concentration in fish, crabs, and lobsters from Newark Bay and the New York bight. *Chemosphere*, **22**, 239–266.

River Bureau, Ministry of Land, Infrastructure and Transport, 2003: The distance of A-class rivers, http://www.mlit.go.jp/river/jiten/toukei/index.html (in Japanese).

Sakai, S., Hiraoka M., Takeda N. and Shiozaki K., 1993: Coplanar PCBs and PCDDs/PCDFs in municipal waste incineration. *Chemosphere*, **27**, 233–240.

Sakai S., Hiraoka M., Takeda N. and Shiozaki K., 1996: Behavior of coplanar PCBs and PCNs in oxidative conditions of municipal waste incineration. *Chemosphere*, **32**, 79–88.

Sakai S., Deguchi S., Urano S., Takatsuki H., and Megumi K., 1999: Time trends of PCDDs/Fs in Lake Biwa and Osaka Bay. *J. Environ. Chem.*, **9**, 379–390 (in Japanese).

Sakaji H., 2002: Fishery biological studies on penaeid shrimps in Tosa Bay, Pacific coast of Japan. *Bull. Fish. Res. Agency*, **6**, 73–127 (in Japanese with English abstract).

Sakurai T., Kim J.G., Suzuki N., Matsuo T., Li D.Q., Yao Y., Masunaga S. and Nakanishi J., 2000: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in sediment, soil, fish, shellfish, and crab samples from Tokyo Bay area, Japan. *Chemosphere*, **40**, 627–640.

Sarna L. P., Hodge P. E. and Webster G. R. B., 1984: Octanol-water partition coefficients of chlorinated dioxins and dibenzofurans by reversed-phase HPLC using several C18 columns. *Chemosphere*, **13**, 975–983.

Sasaki Y., 2000: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in organisms. *J. Environ. Chem.*, **10**, 517–532 (in Japanese).

Sato Y., 1975: Studies on the life history of the bastard halibut, Paralichthys olivaceus (Temminck et Schlegel), near Sendai Bay. *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, **35**, 15–30 (in Japanese).

Satomi Y. 1992: Toxicity of dioxins to aquatic organisms. *Seisan-no-kenkyu (Study of Fishery)*, **11**, 61–76. (in Japanese).

Schimmel S.C., Patrick J.M. Jr., Forester J., 1977: Uptake and toxicity of toxaphene in several estuaries organisms. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **5**, 353-367.

Schrann K.W., Henkelmann B. and Kettrup A., 1995: PCDD/F sources and levels in river Elbe sediments. *Wat. Res.*, **29**, 2160-2166.

Schwetz B.A., Norris J.M., Sparschu G.L., Rowe V.K., Gehring P.J., Emerson J.L. and Gerbig C.G., 1973: Toxicology of chlorinated dibenzo-p-dioxins. Environ. *Health Perspect.*, **5**, 87-99.

Seike N., Otani T., Ueji M., Takasuga T. and Tsuzuki N., 2003: Temporal change of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans and dioxin like polychlorinated biphenyls source in paddy soils. *J. Environ. Chem.*, **13**, 117-131.

Hashimoto S., Wakimoto T. and Tatsukawa R., 1990: PCDDs in the sediments accumulated about 8120 years ago from Japanese coastal areas. *Chemosphere*, **20**, 825-835.

Sijm D.T.H.M., Wever H. and Opperhuizen A., 1993: Congener - specific biotransformation and bioaccumulation of PCDDs and PCDFs from fly ash in fish. *Environ. Toxicol. Chem.*, **12**, 1895-1907.

Sinkkonen S. and Paasivirta J. 2000: Degradation half-life times of PCDDs, PCDFs and PCBs for environmental fate modeling. *Chemosphere*, **40**, 943-949.

Sook-Hyeon I.M., Byung-Yoon M.I.N., Matsuda M. and Wakimoto T., 1995: Levels of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in surface sediments at and surface soils around Masan Bay in Korea. *J. Environ. Chem.*, 5, 625 (in Japanese).

Stachel B., Gotz R., Herrmann T., Kruger F., Knoth W., Papke O., Rauhut U., Reincke H., Schwartz R., Steeg E. and Uhlig S., 2004: The Elbe flood in August 2002 - occurrence of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, polychlorinated dibenzofurans (PCDD/F) and dioxin-like PCB in suspended particulate matter (SPM), sediment and fish. *Wat. Sci. Technol.*, **50**, 309-316.

Stapleton H.M., Masterson C., Skubinna J., Ostrom P., Ostrom N.E. and Baker J.E., 2001: Accumulation of atmospheric and sedimentary PCBs and toxaphene in a Lake Michigan food web. *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 3287-3293.

Takada H., Ogura N., and Ishiwatari R. 1992: Seasonal variations and modes of riverine input of organic pollutions to the coastal zone: 1. Flux of detergent-derived *pollutants to Tokyo Bay. Environ. Sci. Technol.*, **26**, 2517-2523.

Takada H., 1997: Fluxes of land-derived materials to Japanese coastal zones. *Bull. Coastal Oceanogr.*, **34**, 111-117 (in Japanese).

Takasuga T., Inoue T., and Ohi E., 1995: All congener specific analytical method for polychlorinated biphenyls (PCBs) with various chromatographic clean-up and HRGC/HRMS. *J. Environ. Chem.*, **5**, 647-675 (in Japanese).

Takayama K., Miyata H., Aozasa O., Mimura M. and Kashimoto T., 1991: Dietary intake of dioxin-related compounds through food in Japan. *Syokueishi*, **32**, 525-532 (in Japanese).

Tamakawa K., Ohgane Y., Aihara Y., Hiroshima K., Katoh M., Mishima Y. and Seki T., 1984: SEK-PAK katorizi - niyoru - gifenirueteru - kei - josozaino - kanibunsekihou. *Sendaishi eisei sikenjohou*, **14**, 261-266 (in Japanese).

Tamura T., 1960: Suisangaku-zensyu. in "Senkai-zosyokugaku", Kouseisha-Kouseikaku, Tokyo, Japan, vol. 2, pp. 210-221 (in Japanese).

Tanabe S. and Tatsukawa R., 1981: Behavior of chlorinated hydrocarbons in coastal zones and estuaries. *Bull. Coastal Oceanogr.*, **19**, 9-19 (in Japanese).

Tanaka Y., 2006: The measurement of green algae; Spirogyra. *Ai-ken letter*, **2**, 2-4.

Taniguchi M., 2005: Flax material through marine boundary. in "global atmospheric and aquatic chemistry", Tokyo, Japan, 2005, vol. 6, 249-252 (in Japanese).

Tanimoto T. and Hoshika A., 1994: Settling velocity of suspended particles in Osaka Bay and Etauchi Bay. *Oceanogr. Jpn.*, **3**, 13-20 (in Japanese).

Tatsukawa R., 1972: PCB pollution. P.P.M., **8**, 43-52 (in Japanese).

Tohoku Regional Agricultural Office, 1987-2006: Annual report of Agriculture, Forestry and Fisheries in Miyagi Prefecture (in Japanese).

Toyoda M., Uchibe H., Yanagi T., Kono Y., Hori T. and Iida T. 1999: Dietary daily intake of PCDDs, PCDFs, and coplanar PCBs by total diet study

in Japan. *Syokueishi*, **40**, 98–110 (in Japanese).

Trowbridge A.G. and Swackhamer D.L., 2002: Preferential biomagnification of aryl hydrocarbon hydroxylase-inducing polychlorinated biphenyls in the Lake Michigan, USA, lower food web. *Environ. Toxicol. Chem.* **21**, 334–341.

Tsutsumi T., Yanagi T., Nakamura M., Kono Y., Uchibe H., Iida T., Hori T., Nakagawa R., Tobiishi K., Matsuda R., Sasaki K. and Toyoda M., 2001: Update of daily intake of PCDDs, PCDFs, and dioxin-like PCBs from food in Japan. *Chemosphere*, **45**, 1129–1137.

Uegaki R., Seike N. and Otani T., 2006: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in rice plants: possible contaminated pathways. *Chemosphere*, **65**, 1537–1543.

Uematsu M., Minagawa M., Arita H. and Tsunogai S., 1978: Determination of dry weight of total suspended matter in seawater (in Japanese). *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **29**, 164–172.

U.S. Environmental Protection Agency, 1983: NPL Site Narrative for Times Beach Site. http://www.epa.gov/superfund/sites/npl/nar833.htm.

U.S. Environmental Protection Agency, 2009: TRI Dioxin and Dioxin-like Compounds Toxic Equivalency (TEQ) Information Rule- Final rule. http://www.epa.gov/tri/lawsandregs/teq/teqpfinalrule.html#Q2.

Van den Berg M., Birnbaum L., Bosveld A. T., Brunstrom B., Cook, P., Feeley M., Giesy J. P., Hanberg A., Hasegawa R., Kennedy S. W., Kubiak T., Larsen J. C., van Leeuwen F. X., Liem A. K., Nolt C., Peterson R. E., Poellinger L., Safe S., Schrenk D., Tillitt D., Tysklind M., Younes M., Waern F. and Zacharewski T., 1998: Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. *Environ. Health Perspect.*, **106**, 775–792.

Vartiainen T., Mannio J., Korhonen M., Kinnunen K. and Strandman T., 1997: Levels of PCDD, PCDF and PCB in dated lake sediments in subarctic Finland. *Chemosphere*, **34**, 1341–1350.

Verta M., Lehtoranta J., Salo S., Korhonen M. and Kiviranta H., 1999: High concentrations of PCDD's and PCDF's in river Kymijoki sediments, South-Eastern Finland, caused by wood preservative Ky-5. *Organohalogen Compounds*, **43**, 261–264.

Verta M., Salo S., Malve O. and Kiviranta H., 2003: Continued transport of PCDD/F contaminated sediments from River Kymijoki to Gulf of Finland, the Baltic Sea. *Organohalogen Compounds*, **61**, 405–408.

Verta M., Salo S., Korhonen M., Assmuth T., Kiviranta H., Koistinnen J., Ruokojarvi P, Isosaari P., Bergqvist P.A., Tysklind M., Cato I., Vikelsoe J. and Larsen M.M., 2007: Dioxin concentrations in sediments of the Baltic Sea – A survey of existing data. *Chemosphere*, **67**, 1762–1775.

Wan Y., Hu J., Yang M., An L., An W., Jin X., Hattori T. and Itoh M., 2005: Characterization of Trophic Transfer for Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Dibenzofurans, Non- and Mono-*ortho* Polychlorinated Biphenyls in the Marine Food Web of Bohai Bay, North China. *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 2417–2425.

Wenning R.J., Harris M.A., Finley B., Paustenbach D.J. and Bedbury H., 1993: Application of Pattern Recognition Techniques to Evaluate Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxin and Dibenzofuran Distributions in Surficial Sediments from the Lower Passaic River and Newark Bay. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, **25**, 103–125

Wenning R., Dodge D., Peck B., Shearer K., Luksemburg W., Sala S.D. and Scazzola R., 2000: Screening-level ecological risk assessment of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in sediments and aquatic biota from the Venice Lagoon, Italy. *Chemosphere*, **40**, 1179–1187.

Wikipedia, 2008: Polychlorinated dibenzodioxins. http://en.wikipedia.org/wiki/ Polychlorinated_dibenzodioxins.

Woodburn K. B., Doucette W. J. and Andren A. W., 1984: Generator column determination of octanol/water partition coefficients for selected polychlorinated biphenyl congeners. *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 457–459.

Woodwell G. M., Wurster C. F. Jr, Peter A.I., 1967: DDT residues in an east coast estuary: A case of biological concentration of a persistent

insecticide. *Science*, **156**, 821-824.

Wu W.Z., Schramm K.W. and Kettrup A., 2001: Bioaccumulation of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in the foodweb of Ya-Er Lake area, China. *Water Res.*, **35**, 1141-1148.

Yamada H., Kawamura T., Takeuchi T. and Yamashita Y., 1995: Effects of dietary condition on the survival, growth and reproduction of Acanthomysis mitsukuri (Crustacea, Mysidacea). *Bull. Plankton Soc. Jpn.*, **42**, 43-52.

Yamada H., Tateishi M., Ikeda K., 1995: The effect of the size of test fish species on bioconcentration characteristics of α-hexachlorocyclohexane. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **61**, 905-911 (in Japanese).

Yamada H., 1997a: Bioaccumulation of polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in aquatic organisms'. *Bull. Natl. Res. Inst. Fish. Sci.*, **9**, 139-161 (in Japanese).

Yamada H., 1997b: Hatching and early feeding of Japanese sand eel Ammodytes personatus in the Ise Bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **64**, 440-446 (in Japanese).

Yamada H., Sato K., Nagahora S., Kumagai A. and Yamashita Y., 1998: Feeding habit of the Japanese flounder Paralichthys olivaceus in Pacific coastal water of Tohoku district, Northeastern Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **64**, 249-258 (in Japanese).

Yamagishi T., Miyazaki T., Akiyama K., Morita M., Nakagawa J., Horii S. and Kaneko S., 1981: Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in commercial diphenyl ether herbicides, and in freshwater collected from the application area. *Chemosphere*, **10**, 1137-1144.

Yamashita N., Kannan K., Imagawa T., Villeneuve D. L., Hashimoto S., Miyazaki A. and Giesy J. P., 2000: Vertical profile of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins, dibenzofurans, naphthalenes, biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, and alkylphenols in a sediment core from Tokyo Bay, Japan. *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3560-3567.

Yamashita Y., Tanaka M., Miller J.M., 2001: Ecophysiology of juvenile flatfish in nursery grounds. *J. Sea Res.*, **45**, 205-218.

Yanagi T., and Hashimoto T., 2000: Behavior of PCB in Tokyo Bay. Bull. Coastal Oceanogr., **37**, 25-27 (in Japanese with English abstract).

Yao Y., Masunaga S., Takada H. and Nakanishi J., 2002: Identification of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin, dibenzofurans, and coplanar polychlorinated biphenyl sources in Tokyo Bay, Japan. *Environ. Toxicol. Chem.*, **21**, 991-998.

You J.C., Kim S.C., Choi K.H., Jeon S.E., Youn S.J. and Joo C.H., 2004: Study of indicator isomer in dioxin analysis. *Organohalogen Compounds*, **66**, 365-368.

水研センター研報，第37号，65－83，平成25年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 37, 65-83, 2013

亜熱帯海域における資源造成：シロクラベラにおける種苗放流技術の開発

佐藤　琢[*1]・河端　雄毅[*2]・奥澤　公一[*3]・浅見　公雄[*4]・小林　真人[*5]・
山田　秀秋[*1]・福岡　弘紀[*1]・與世田　兼三[*6]・武部　孝行[*5]・平井　慈恵[*7]・
秋田　雄一[*8]・名波　敦[*1]・太田　格[*9]・鈴木　伸明[*1]・千村　昌之[*10]・
青沼　佳方[*1]・加藤　雅也[*11]・澁野　拓郎[*12]・照屋　和久[*1]

Stock enhancement in black-spot tuskfish *Choerodon schoenleinii*

Taku SATO[*1], Yuuki KAWABATA[*2], Koich OKUZAWA[*3], Kimio ASAMI[*4], Masato KOBAYASHI[*5], Hideaki YAMADA[*1], Kouki FUKUOKA[*1], Kenzo YOSEDA[*6], Takayuki TAKEBE[*5], Narisato HIRAI[*7], Yuichi AKITA[*8], Atushi NANAMI[*1], Itaru OHTA[*9], Nobuaki SUZUKI[*1], Masayuki CHIMURA[*10], Yoshimasa AONUMA[*1], Masaya KATOH[*11], Takuro SHIBUNO[*12], and Kazuhisa TERUYA[*1]

Abstract : Stock enhancement, in which mass hatchery-reared juveniles are released in the wild to help enhancing depleted stocks, is one of the fishery management tools of declining resources. Black-spot tuskfish *Choerodon schoenleinii* is a commercially high value resource in Okinawa, however, its commercial landings has decreased recently. Thus, we aimed to propose the optimal release strategy to enhance black-spot tuskfish stock through the experimental release trials, field investigations and laboratory experiments. Our study showed 1) bigger juvenile size for release, 2) pre-release conditioning to natural environment and their shelters, and 3) pre-release predator learning treatment will reduce post-release predation mortality by piscivorous fishes. However, these countermeasures against post-release predation need to take large labor and costly if mass release is conducted. Therefore, we further investigated whether release of small juveniles can be alternate way not only for attaining success of enhancement of the stock but also for economic feasibility. Our study

2012年10月15日受理（Received on October15, 2012）

[*1] 水産総合研究センター西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎　〒907-0451　沖縄県石垣市字桴海大田148-446（Research Center for Subtropical Fisheries, Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Fukai-ohta 148-446, Ishigaki, Okinawa 907-0451, JAPAN）
[*2] 長崎大学水産・環境科学総合研究科環東シナ海環境資源研究センター　〒851-2213　長崎県長崎市多以良町1551-7（Institute for East China Sea Research, Nagasaki University, Taira 1551-7, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, JAPAN）
[*3] 水産総合研究センター増養殖研究所南勢庁舎　〒516-0193　三重県度会郡南伊勢町中津浜浦422-1（Nati・al Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Nakatsuhamaura 422-1, Minami-ise, Mie 516-0193, JAPAN）
[*4] 水産総合研究センター瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター　〒722-0061　広島県尾道市百島町1760（Momoshima Stati・, National Research Institute of Fisheries and Envimnment of Inland Sea, Fisheries Research Agency, Momoshima 1760, Onomichi, Hiroshima 722-0061, JAPAN）
[*5] 水産総合研究センター西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎　〒907-0451　沖縄県石垣市字桴海大田148（Research Center for Subtropical Fisheries, Seikai National Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Fukai-ohta 148, Ishigaki, Okinawa 907-0451, JAPAN）
[*6] 水産総合研究センター西海区水産研究所長崎庁舎　〒851-2213　長崎県長崎市多以良町1551-85（Seikai Nati・al Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Taira 1551-85, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, JAPAN）
[*7] 水産総合研究センター増養殖研究所志布志庁舎　〒899-7101　鹿児島県志布志市志布志町夏井205（National Research Institute of Aquaculture, Fisheries Research Agency, Natsui 205, Shibushi, Shibushi, Kagoshima 516-0193, JAPAN）
[*8] 沖縄県水産海洋研究センター石垣支所　〒907-0453　沖縄県石垣市字川平828-2（Ishigaki Branch, Okinawa Prefectural Fisheriesand Ocean Reserch Center, Azakabira 828-2, Ishigaki, Okinawa 907-0453, JAPAN）
[*9] 沖縄県水産海洋研究センター　〒901-0305　沖縄県糸満市西崎1-3-1（Okinawa Prefectural Fisheriesand Ocean Reserch Center, Irizakil 1-3-1, Itoman, Okinawa 901-0305, JAPAN）
[*10] 水産総合研究センター北海道区水産研究所　〒085-0802　北海道釧路市桂恋116番地（Hokkaido Nati・al Fisheries Research Institute, Fisheries Research Agency, Katsurakoi 116, Kushiro, Hokkaido 085-0802, JAPAN）
[*11] 水産総合研究センター本部（海外派遣：SEAFDEC/MFRDMD）　〒220-6115　神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3クイーンズタワーB15階（Fishcries Research Agency, 15F Queen's To·ver B, 2-3-3 Minato-Mirai, Nishi, Yokohama, Kanagawa 220-6115, JAPAN）
[*12] 水産総合研究センター増養殖研究所横須賀庁舎　〒238-0316　神奈川県横須賀市長井6-31-1（Nati・al Research Institute of Aquaculture, Fishcries Research Agency, Nagai 6-31-1, Yokosuka, Kanagawa 231-0316, JAPAN）

showed the release of small juveniles to seaweed beds, acting as shelters and foraging habitat, can be the optimal way to enhance the stock if we can estimate the optimal fish density at release. A comprehensive understanding of the ecological interactions between released juveniles and target ecosystem is important in developing effective release strategy.

Key words : *Choerodon schoenleinii*, optimal release strategy, pre-release conditioning, pre-release learning predator, post-release predation, stock enhancement

目　次

1．はじめに
2．体サイズの異なる種苗を用いた種苗放流の結果
3．放流後の減耗要因の推定
　3-1. 逸散か？飢餓か？被食か？
　3-2. 魚食性魚類の出現パターンとその胃内容物
4．「被食」を如何にして軽減するか？
　4-1.『種苗の大型化』による被食の軽減
　4-2.『基質・巣穴への馴致』による被食の軽減
　4-3.『捕食者の学習』による被食の軽減
5．小型種苗を用いた種苗放流
　5-1. 初期生態に基づいた種苗放流
　5-2. 放流密度が放流種苗の摂餌や成長に与える影響
6．今後のシロクラベラ資源の回復に向けて
7．謝辞
8．引用文献

1．はじめに

我が国周辺水域における多くの水産資源が低位水準にある中，漁業者の経営安定化を図りつつ，沿岸資源の回復あるいは持続的な利用を図っていくことは重要な課題である。資源状態を改善する有効な手段として，間接的に資源の増加を図る漁業管理や育成場の造成・保護とともに，直接的に資源の増大や安定化を目指す種苗放流を行う「栽培漁業」が挙げられる。1963年に瀬戸内海からはじまった栽培漁業は，主に高価格な水産資源を対象にして，人工的に生産した種苗の放流によって資源の増大やその漁獲量の安定化を目指してきた。今日に至るまで様々な水産資源に対して種苗生産技術が確立されるとともに，放流技術が開発されてきた。シロザケ *Oncorhynchus keta*（大島・菅野，1976）やマダイ *Pagrus major*（Kitada and Kishino, 2006），ヒラメ *Paralichthys olivaceus*（Kitada and Kishino, 2006），ホタテガイ *Mizuhopecten yessoensis*（北田・藤島，1997）での放流効果に続き，近年ではクロソイ *Sebastes schlegeli*（陳・野田，2010）やトラフグ *Takifugu rubripes*（松村，2006; 堀井・片町，2012），サワラ *Scomberomorus niphonius*（山崎ら，2007），マツカワ *Verasper moseri*（北海道ほか，2004），ホシガレイ *Verasper variegatus*（島村ら，2007）などにおいても種苗放流によって資源の添加や造成，底支えがなされている事例がみられている。このように種苗放流は直接的に資源の増加を図れることから沿岸漁業者の経営の安定に寄与する手段となりうる。しかし，これまで熱帯，亜熱帯域において種苗放流によって資源添加，資源造成に成功した事例はなく，熱帯，亜熱帯域における栽培漁業の効果は明らかにされていない。

シロクラベラ *Choerodon schoenleinii* はベラ科イラ属に属し，体長１ｍに達するベラ類最大級の大型種である。西太平洋の熱帯，亜熱帯域のサンゴ礁域に分布し，日本では主に沖縄県や奄美諸島に生息する。沖縄県では本種はスジアラ *Plectropomus leopardus*，ハマダイ *Etelis coruscans* とともに沖縄三大高級魚と呼ばれ，経済価値の高い水産資源である。しかし近年，シロクラベラの資源量は減少傾向にあり（太田ら，2007），その回復が望まれている。そこで西海区水産研究所亜熱帯研究センターでは本種資源の回復を目指し，2006年から2010年にかけて「亜熱帯・熱帯地域特産種シロクラベラの資源回復に向けた研究開発」と題した水産総合研究センター運営交付金プロジェクト（以下，交付金プロジェクト）を実施してきた。その研究課題のひとつであった「異なる種苗放流がその後の滞留，分布，成長，生残および回収率に及ぼす影響」では，栽培漁業による本種資源の回復を目標に，熱帯・亜熱帯域における効果的な種苗放流技術の開発に取り組んできた。本稿では当該研究課題によって得られた知見を整理し，本種をはじめとした，熱帯・亜熱帯域において低位水準にある沿岸資源の回復・維持管理方策について考察する。

2．体サイズの異なる種苗を用いた種苗放流の結果

種苗放流によって効率的に資源添加を試みる際，放

流に適した種苗の体サイズ，放流場所，放流時期の検討が重要である（Yamashita and Yamada, 1999）。そこで，本種の稚魚や成魚が観察され，その成育場と考えられる沖縄県石垣島西側にある名蔵湾を放流点として，まず体サイズの異なる種苗を放流することにより，種苗の体サイズが放流後の種苗の滞留状態（放流後の種苗の逸散や被食等による死亡の結果，放流点でみられる種苗の残存数）や回収率（各放流群の総放流個体数に対する再捕個体数の割合であり，放流効果を表すひとつの指標）に与える影響について調べた。

本研究課題の実施地である八重山諸島周辺海域の漁獲物が水揚げされる場所は限られており，そのほとんどは石垣島の八重山漁業共同組合鮮魚卸売市場と那覇市の沖縄県漁連地方卸売市場である。そこで，放流種苗の回収率について調べるため，八重山漁業協同組合鮮魚卸売市場では2006年から2010年に，沖縄県漁連地方卸売市場では2009年から2010年にかけて市場調査法（北田，2001）による全日全数調査を行った。市場調査法では調査員による標識の発見精度が高くなるため，視認性よりも持続性の高い標識を利用することができる（大河内，2006）。そこで，放流する大型種苗（平均全長50 - 100 mm）にはマーキングタイプの外部標識である腹鰭抜去標識（大河内，2006）を用いた。抜去した腹鰭の再生による標識の脱落率を把握するため，腹鰭抜去した各放流群から100尾程度の個体をランダムに抽出して飼育し，飼育下で継続観察を行うことによって，放流群ごとでの腹鰭再生率を調べ，各放流群の回収率を補正できるようにした。一方，腹鰭抜去標識は体サイズの小さな種苗には適用できないため，小型種苗（平均全長10 - 20 mm）にはマーキングタイプの内部標識であるアリザリンコンプレクソン（以下，ALC）標識を用いた。まず本種における ALC 標識の装着に最適な条件を調べるため，異なる濃度の ALC 溶液（20 ppm, 40 ppm, 80 ppm）を用意し，それぞれに全長10 - 20 mm の小型種苗を浸漬した。浸漬時間を 6 時間，12時間，もしくは24時間とし，各浸漬条件における本種小型種苗の生残や標識の成否について調べた。その結果，本種の小型種苗には ALC 濃度80 ppm 溶液への24時間浸漬が適当であることがわかり，本研究課題ではこの方法で小型種苗に ALC 標識を装着した。

2007年 5 月に ALC 標識を装着した小型種苗群（平均全長10 mm 群7500尾と平均全長17 mm 群3000尾）を，2008年 1 月には腹鰭抜去標識を施した大型種苗群1800尾（平均全長96 mm 群）を，また同年10月には腹鰭抜去標識を施した中型種苗群6400尾（平均全長57 mm 群）を名蔵湾に放流し，潜水観察により放流後の種苗の様子を観察した。

その結果，小型種苗群では，放流直後から観察できる種苗数が急速に減少し，放流からわずか 3 時間後には放流点や放流点周辺において，まったく種苗を発見することができなくなった。放流した小型種苗の個体追跡を行ったところ，放流後まもなくハゼ類やギンポ類に捕食される様子が観察された。このことからこれら小型種苗群の放流では，自発的な逸散によって種苗の姿が見えなくなった可能性はあるものの，被食によって滞留している種苗数が急激に減少した可能性が高いと考えられた。

それに対して，中型種苗群と大型種苗群においては放流直後に種苗の姿が一切見られなくなるということはなく，放流点付近にて水柱中を群泳したり，岩陰に寄り添ったりする姿が観察された。例えば，サワラでは全長40 mm と100 mm の種苗群で比べた場合，放流種苗の体サイズが大きい方が混獲率が約 3 - 4 倍も高いことがわかっており（小畑，2006），本放流実験でも種苗の体サイズの増加が被食リスクを軽減した結果，生残率すなわち滞留率が向上したことが考えられた。しかし，中型，大型種苗群のどちらにおいても，放流から日数が経過するにつれて放流点付近に滞留している種苗数は徐々に減少し，放流14日後には種苗の姿は一切みられなくなった。

3．放流後の減耗要因の推定

3-1．逸散か？飢餓か？被食か？

小型種苗に比べて被食リスクの低いと思われた中型種苗群や大型種苗群においても，放流点周辺から種苗の姿が徐々に観察されなくなっていく原因のひとつとして，これまで「放流点からの種苗の自発的な逸散」が挙げられてきた。しかし，現在のところ，放流後の市場調査において，小型種苗群のみならず中型種苗群と大型種苗群のどちらからも一切の水揚げはない（2012年 4 月現在）。放流種苗の水揚げが全くない状況から，「放流点からの自発的な逸散」はあるものの，大部分の種苗は放流後に何らかの原因で死亡している可能性が高い。その死亡の原因としては「飢餓」や「被食」が考えられるだろう。

そこで，放流後に起こると予想される種苗の死亡が「飢餓」によるものかどうかを検討するため，2009年 4 月に大型種苗3000尾（平均全長90 mm）をこれまでと同様に名蔵湾にて放流し，本種の放流種苗が野外において摂餌を行うかどうかについて調べた。放流 2 日後および 3 日後に採集できた放流種苗 9 尾の消化管内容物を調べた。その結果，8 尾（88.9%）の消化管からは貝虫類や甲殻類等の消化物がみられ（Fig. 1），放流

Fig. 1. Stomach contents of released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juvenile. a) ostracod, b) a cheliped of crustacean.

種苗は野外環境下でも摂餌できることが明らかになった。したがって，放流種苗の水揚げが依然としてみられない主な原因は「飢餓」ではなく「被食」であると疑われた。近年，マダイやヒラメ，スジアラなどの放流においても，放流直後に稚魚が減耗する主要な要因として被食が挙げられている（Tsukamoto *et al.*, 1989; Yamashita *et al.*, 1994; 照屋ら 2003b; Sudo *et al.*, 2008）。もし，「被食」が放流直後からの本種放流種苗の急速な減少を招いているならば，その「被食」を軽減する放流技術の開発が種苗放流による本種の資源添加を実現させるために重要な要素となる。

3-2. 魚食性魚類の出現パターンとその胃内容物

では，本当にシロクラベラの中型，大型種苗は放流直後から捕食されているのか？また，いつどのような捕食者によって捕食されているのか？これらについて明らかにするため，2009年4月に平均全長90 mmの種苗群（3000尾）を名蔵湾で放流し，放流点周辺において水中デジタルカメラによるインターバル撮影と放流点周辺で観察された魚食性魚類の胃内容物調査を行った。

その結果，放流点周辺では魚食性魚類のナミハタ

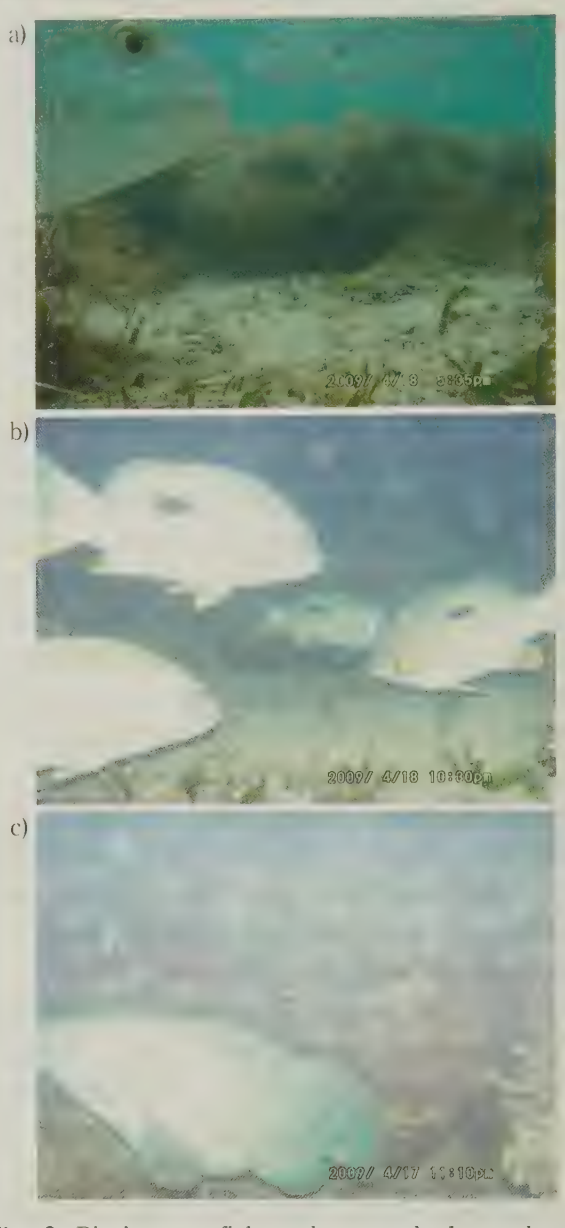


Fig. 2. Piscivorous fishes photographed at release point. a) *Caranx papuensis*, b) *Lutjanus fulviflamma*, c) *Epinephelus ongus*.

Epinephelus ongus，ニセクロホシフエダイ *Lutjanus fulviflamma*，オニヒラアジ *Caranx papuensis* が複数個体撮影され，放流点に滞留している種苗の群れに対して蝟集していると考えられた（Fig. 2）。魚食性魚類が撮影される時間は種によって異なり，ナミハタとニセクロホシフエダイは主に夜間に，オニヒラアジは朝夕の薄明期に見られた（Fig. 3）。また，日中に行った潜水による目視観察では，複数個体のオニヒラアジが滞留している種苗を捕食している様子が幾度も見られた。シロクラベラは昼行性であり，夜間は岩などの基質の下で寝る（Kawabata *et al.*, 2008）。そのため，日中に比べて夜間のほうが捕食を受けやすいことが想像

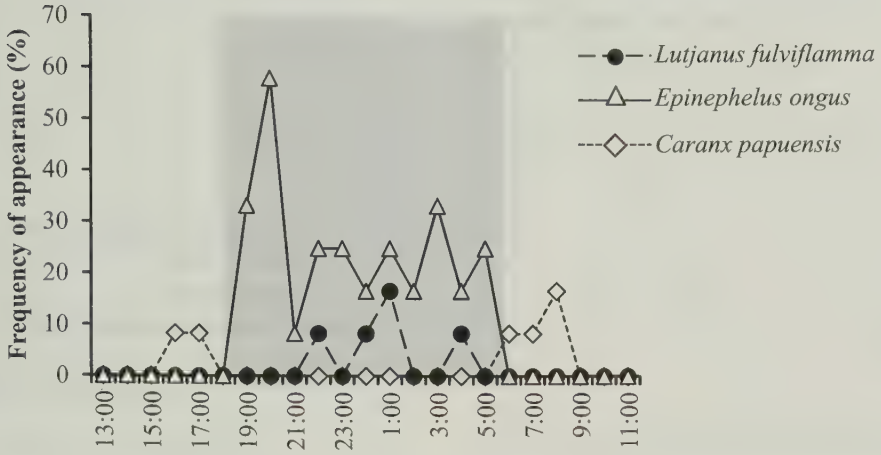


Fig. 3. Temporal variation in appearance frequency of piscivorous fishes photographed at release point. Frequency of appearance was estimated as: frequency of appearance = number of photo photographing piscivorous fish / number of photo taken within an hour × 100. Gray area represents nighttime.

される。

次に，放流点周辺で観察されたナミハタ，オニヒラアジ，オニダルマオコゼ *Synanceia verrucosa* を釣りや手銛等によって捕獲し，その消化管内容物を観察したところ，それぞれの消化管内には複数の放流種苗が認められた。あるオニヒラアジからは種苗５尾（種苗の全長78 - 100 mm），またあるオニダルマオコゼからは種苗９尾（種苗の全長60 - 104 mm）というように１個体の捕食者の胃の中から多くの種苗が同時に確認された（Fig. 4）。これらの観察結果から，放流種苗は放流直後から昼夜を通して高い捕食圧を受けていることが推測された。放流後における急速な滞留種苗数の減少には「被食」が強く関係しており，種苗放流による本種の資源添加を阻んでいる主要因であると考えられた。

Fig. 4. A total of 9 released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles were emerged from stomach of a stonefish *Synanceia verrucosa*.

4．「被食」を如何にして軽減するか？

4-1.『種苗の大型化』による被食の軽減

では，どのようにして放流直後から起こっている「被食」を軽減するか？様々な魚種において，1)大きい種苗ほど生残に優れていること，2)種苗の体サイズが放流後の種苗の生残や回収率に大きな影響を与えることが知られている（Bilton *et al.*, 1982; Tukamoto *et al.*, 1989; Yamashita *et al.*, 1994; Secor *et al.*, 1995; 村上ら，2005; 小畑ら，2007）。その理由として，1)捕食者にとって捕食可能な餌サイズは口径によって制限されるため（Shireman *et al.*, 1978; 照屋ら，2003a），大きな個体ほど捕食されるリスクが低いこと，また2)大きな個体ほど逃避能力に優れていること（矢野・小川，1981）などが挙げられる。

そこで，まずシロクラベラにおいても放流種苗の体サイズを大きくすることによって放流種苗の生残率や回収率を向上させることができるのかどうかについて調べることとした。様々な体サイズの本種種苗10尾（全長65 - 120 mm）と捕食者３尾（ナミハタ：全長208 - 277 mm）を同一水槽内に同居させる水槽実験を行い，同居開始から14日後の種苗の生残を記録することにより，種苗の体サイズが被食減耗に与える影響について調べた。その結果，大きな種苗ほどより生残し，本水槽実験にて捕食者として利用した体サイズのナミハタに対しては，半数の種苗が生残する体サイズは全長98

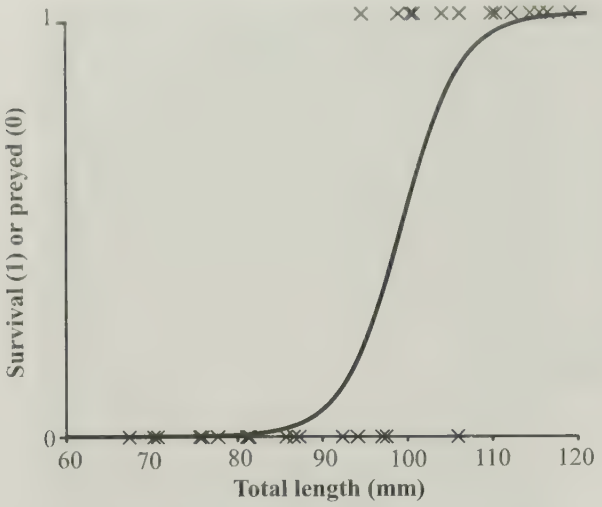


Fig. 5. Relationship between body size and survival of black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) in the laboratory experiment. Survival and death of the fish are plotted as 1 and 0, respectively, by X. The logistic curve for the survival probability in relation to tuskfish size is shown. The size at 50% survival was estimated to be 98 mm in total length (TL). Redrawn after Kawabata *et al.* (2011a) with permission.

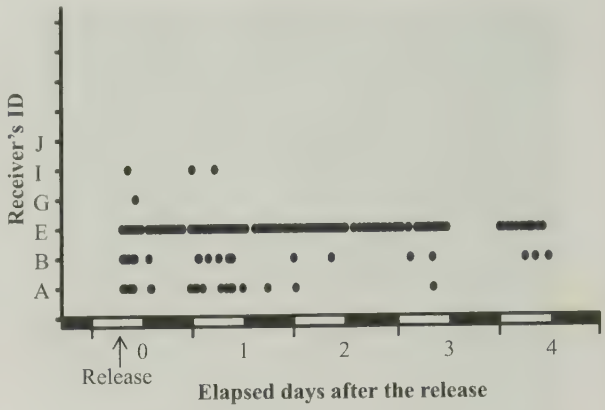


Fig. 6. Typical post-release detection pattern of a released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) of 300 mm in total length. White and black bars at the bottom of figure indicate daytime and nighttime, respectively.

mm であった（Fig. 5, Kawabata *et al.*, 2011b）。このことから放流種苗の体サイズを大きくすることによって，被食環境下での，つまり放流後の生残率を向上させられることが示唆された。

しかし，本水槽実験で使用した捕食者はナミハタのみであり，かつその体サイズは限られている。実際に野外の放流点周辺ではより多くの種類の捕食者に加え，使用したナミハタよりはるかに体サイズの大きな捕食者（例えばオニヒラアジ：全長675 mm）が捕獲されており，全長98 mm 以上の種苗を放流すれば半数の種苗が生残できるわけではないだろう。実際に2008年1月に放流した平均全長96 mm の種苗群（1800尾）では，放流から1週間後までしか放流点において種苗は観察されず，その後の市場調査でも放流種苗は見つかっていない。これらのことは野外で被食されうる種苗の体サイズは本水槽実験で用いた個体より大きく，より大きな種苗を放流しなければ放流種苗は生残できず，放流効果を得ることはできないということを示している。

そこで，本種の種苗を野外へ放流する場合，どれくらいの体サイズであれば生残することができるのかについて調べるため，超音波バイオテレメトリーを用いた放流実験を行った（Kawabata, 2010）。まず体サイズの異なる本種種苗20尾（全長118 – 300 mm）の腹腔内に超音波発信機（V7-2L もしくは V9P-2H, Vemco 社製）を外科的手術により装着した。超音波発信機の装着から少なくとも4週間は，装着による種苗の生残や成長に対して悪影響はないことがわかっている（Kawabata, 2010）。石垣島北側の浦底湾内に受信機（VR2もしくは VR2 W）を設置し，その海域へ発信機を装着した種苗を放流した。複数台の受信機を配置し，一定の時間間隔で受信することにより，発信機装着個体の移動や日周性を把握し，それによって放流後の種苗の生残や行動について調べた。

その結果，放流の2日後に体長200 mm のある個体の受信が途絶えたものの，その1尾を除いた体長170 mm 以上の種苗13尾全てについては，放流後2週間にわたって受信が続いた。これらの種苗からの発信は，1)日中においてのみ，広範囲に配置された複数台の受信機によって受信され，2)夜間においては主に特定の受信機によって受信された（Fig. 6）。このような受信パターンは，日中は広範囲を遊泳し，夜間はある場所に留まる，つまり岩などの基質の下で寝るというシロクラベラの昼行性とよく一致した。そのため，これらの個体はその受信パターンから放流後2週間以上は生存していたと考えられた。

一方，体長170 mm 以下の6尾（全長118 – 128 mm）からの受信は放流から5日以内には全て受信が途切れた。これらの種苗の受信パターンには昼夜にかかわらない広範囲での発信機の移動がみられた（Fig. 7）。このような受信パターンは捕食者が示す活動性と類似していたことから，おそらく体長170 mm 以下の種苗は放流後短期間のうちに捕食されたと考えられた。本放流実験の結果，2週間の放流期間に半数の種苗が生残

する体サイズは全長167.9 mmであり，放流後の生残は種苗の全長が120 mmから170 mmの間で急激に向上することが示された（Fig. 8, Kawabata, 2010）。野外では捕食される種苗の体サイズは上述の水槽実験に比べてはるかに大きかった。

本実験の結果から，放流する種苗サイズの大型化は放流種苗の生残率の向上に繋がることが示された。ただし，半数の種苗が生残した全長約170 mmまでに本種種苗を育成するためには1年半から2年程度の長期間を要する。放流種苗の体サイズが大きいほど放流後の生残がよいとしても，大きな放流サイズに成長させるまでの飼育経費を考えると，「放流種苗の大型化」による被食の軽減は種苗放流の現場における現実的な手段として捉えることは困難であり，他の手段を模索する必要がある。

4-2.『基質・巣穴への馴致』による被食の軽減

シロクラベラ種苗放流後の被食を軽減させる他の方法として，種苗の「馴致」が挙げられる。一般に定住性魚類は休息や捕食回避のために巣穴を利用したり（Hixon and Beets, 1993），砂に潜ることによって捕食を回避する（Kruuk, 1963; Ellis *et al.*, 1997）。つまり，放流種苗が野外環境において，巣穴を形成して利用すること（Brown and Day, 2002）や潜砂行動をとること（Kellison *et al.*, 2002; Sparrenvohn and Sttøtrup, 2007）は放流後のそれらの生残に大きく影響する。しかし，水槽内で飼育された種苗が放流された野外環境において種本来の生態的な行動を発現するまでには，ある程度の期間が必要であることが知られている。例えば，アカアマダイ *Branchiostegus japonicus* は巣穴を利用するが，放流種苗が巣穴を形成し，利用しはじめるまでには放流から1週間以上かかる（Yokota *et al.*, 2006）。また，ドーバーソール *Solea solea* は潜砂行動を示すが，種苗が野生個体と同様の潜砂行動を行うようになるのには12日程度の期間を必要とする（Ellis *et al.*, 1997）。このような種苗の行動的欠陥に起因して，放流種苗の多くは放流された野外環境に順応するまでの間に捕食されていることが懸念される。以上のような背景の中，放流する前に種苗を放流環境に馴致することによって，種苗の捕食者回避能力を向上させ（例えば *Paralichthys olivaceus*, Kellison *et al.*, 2002; Hossain *et al.*, 2002; ウィンターフラウンダー *Pseudopleuronectes americanus*, Fairchild and Howell, 2004; イシビラメ *Psetta maxima*, Sparrenvohn and Sttøtrup, 2007），放流後の種苗の生残率を上げる試みがなされている。シロクラベラでは岩などの基質の下の砂を掘ることにより巣穴を持つことが知られており（Fairclough *et al.*, 2008），種苗を放流環境に馴致したのちに放流することにより，放流後の被食を軽減することができるかもしれない。

水槽実験：そこで，シロクラベラ種苗（全長84 ± 5 mm）と捕食者（ナミハタ：全長200 - 280 mm）を用

Fig. 7. Typical post-release detection pattern of a released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) of 118 mm in total length. White and black bars at the bottom of figure indicate daytime and nighttime, respectively.

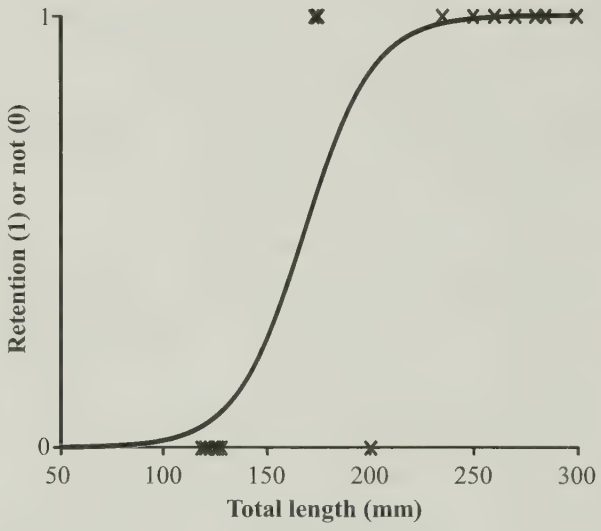


Fig. 8. Relationship between body size and retention of released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) to Urasoko Bay. The retention and no retention of the fish are plotted as 1 and 0, respectively, by X. The logistic curve for the retention probability in relation to tuskfish size is shown. The size at 50% retention was estimated to be 167.9 mm in total length (TL). Redrawn after Kawabata (2010) with permission.

いた水槽実験によって，本種の放流環境への馴致の有無が種苗の巣穴の形成や利用行動，さらに被食率に与える影響について調べた（Kawabata *et al.*, 2011b）。まず，砂を敷いた水深0.8 m の角型水槽（1.4 m × 3.0 m）に飢餓状態のナミハタを3尾入れることにより水槽内を被食環境とした。次に，この水槽の一部にふたつの仕切りカゴ（60 cm × 60 cm × 高さ60 cm）を設置することにより捕食者が侵入できないエリアを2箇所つくった。カゴで仕切ったエリア内で種苗に対して次のような異なる3つの操作を行う，3つの実験群を設けた（Fig. 9）。

操作①：ひとつのエリア内には，種苗が隠れることができ，また巣穴を作る際にその下を利用できる，トンネル型の基質を種苗1尾と一緒に入れ，基質に隠れたり，巣穴を形成することができる状態に種苗をおいた（n = 17）。

操作②：ひとつのエリア内には上記と同様の基質が入っているが，種苗1尾はもう片方のエリアにいれ，基質を利用できない状態に種苗をおいた（n = 16）。

操作③：どちらのエリアにも基質はなく，片方のエリアに種苗1尾だけをいれた（n = 9）。

各操作の状態で45時間，種苗を馴致させた後，ふたつの仕切りを取り除くことによって種苗を被食環境にさらした。すなわち，操作①では被食環境になる前から種苗は基質へ馴致されている状態であり，操作②では被食環境になって初めて種苗が基質の使用可能な状態となる。一方，操作③では被食環境になる前後において，ともに基質がないため，種苗は隠れることも，巣穴を掘ることもできない状態である。仕切りを取り除いた後は，4時間ごとに種苗の行動と生残について記録し，24時間にわたって観察を続けた。

その結果，操作③では，仕切りを取り外してから12時間以内には全ての種苗が捕食された（Fig. 10）。また，操作②では，仕切りを取り外した8時間後にはじめて基質に隠れる個体が出現したが，実験終了時の24時間後まで生残した種苗は1尾のみ（6％）であり，ほとんどの種苗が12時間後には捕食された（Fig. 10）。それに対して，操作①において被食環境にさらされる前から基質への馴致を行った場合は，仕切りを取り除いた直後から既にほとんどの種苗は基質に隠れており，かつ種苗の76%は基質の下に巣穴を形成していた。その結果，実験終了時まで7個体（41%）が生残した（Fig. 10）。

この水槽実験の結果は，1）本種では基質を利用しはじめるまで，また巣穴を形成しはじめるまでにある程度の時間がかかること，2）種苗の基質への馴致が基質の利用や巣穴の形成を促し，その行動は被食率の低下に貢献することを示している。また，操作3では，実験開始の8時間後から12時間後の，照度が低下した時間帯に急激に被食率が上昇する結果が得られており，これは夜間に活動を休止するため捕食されやすくなるだろう本種にとって，隠れる場所や巣穴の有無はその

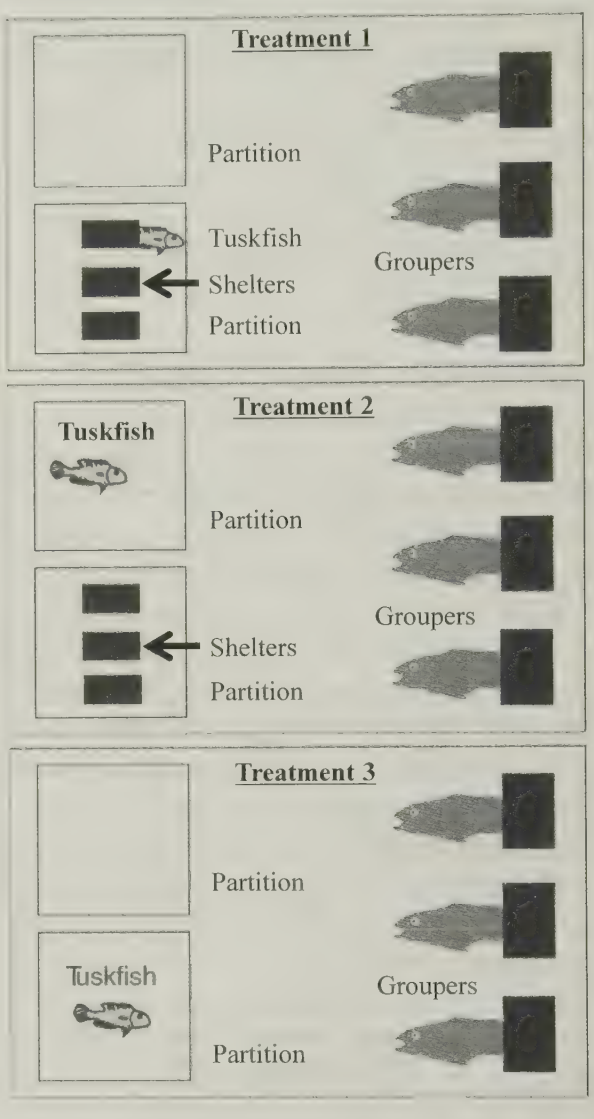


Fig. 9. A schematic drawing of the overhead view of the three treatments. Treatment 1 (top): black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) were acclimated to shelters prior to exposure to white-streaked groupers (*Epinephelus ongus*). Treatment 2 (middle): black-spot tuskfish were not acclimated to shelters but shelters were available during exposure to groupers. Treatment 3 (bottom): black-spot tuskfish were not acclimated to shelters and no shelters were available during exposure to groupers. Partitions were removed at the start of the experiment. Redrawn after Kawabata *et al.* (2011a) with permission.

生残に大きく影響を与えることを示している。これらのことから，本種でも放流前に種苗を基質に馴致し，巣穴の形成，利用を促すことによって，放流後の被食を軽減できることが示唆された。

野外実験：室内実験の結果を基に，実際に野外へ種苗を放流する際に，放流前の基質への馴致が種苗の被食率の軽減に繋がるのかどうかを調べるため，超音波バイオテレメトリーを用いた野外放流実験を行った(Kawabata, 2010)。本実験では下記のような異なる操作によって3つの放流群を設けた。

群①：放流前から基質に隠れることができ，かつ巣穴を形成できる状態で野外環境に馴致した群(n = 4)。

群②：放流前には野外環境には馴致されているが，基質に隠れたり，巣穴を形成できない状態で馴致された群（n = 4)。

群③：一切の馴致を行わず，野外環境へ直接放流された群（n = 6)。

まず，受信機（VR2もしくはVR2 W）を設置している浦底湾内の砂泥底に，海底に接する底面部が欠けている立方体状のカゴ（60 cm × 60 cm × 高さ30 cm）を8つ設置した。設置したカゴのうち4つには，カゴ内の砂泥底面上に種苗が隠れることができ，また巣穴を作る際にその下を利用できる，トンネル型の基質を設置した。次に本種種苗14尾（全長128 ± 9 mm）の腹腔内に超音波発信機（V7-2L, Vemco社製）を外科的手術により装着した。そのうち4尾は基質を設置した4つのカゴに1尾ずつ入れ（群①)，さらに4尾は残り4つの基質の入っていないカゴに1尾ずつ入れ（群②)，異なる条件下で放流環境への馴致を行った。5日間の馴致の後，馴致した計8尾のカゴを取り除き，放流した。それと同時に，残りの種苗6尾も同じ海域へ馴致を経ずに直接放流し（群③)，これら計14尾の放流後の行動・生残について調べた。

その結果，群③では，放流後すぐに1個体が受信可能海域から移出し，残り5個体からの受信は放流から5日以内に途切れた（図 Fig. 11)。受信が途切れるまでのそれら5個体からの受信パターンを見てみると，

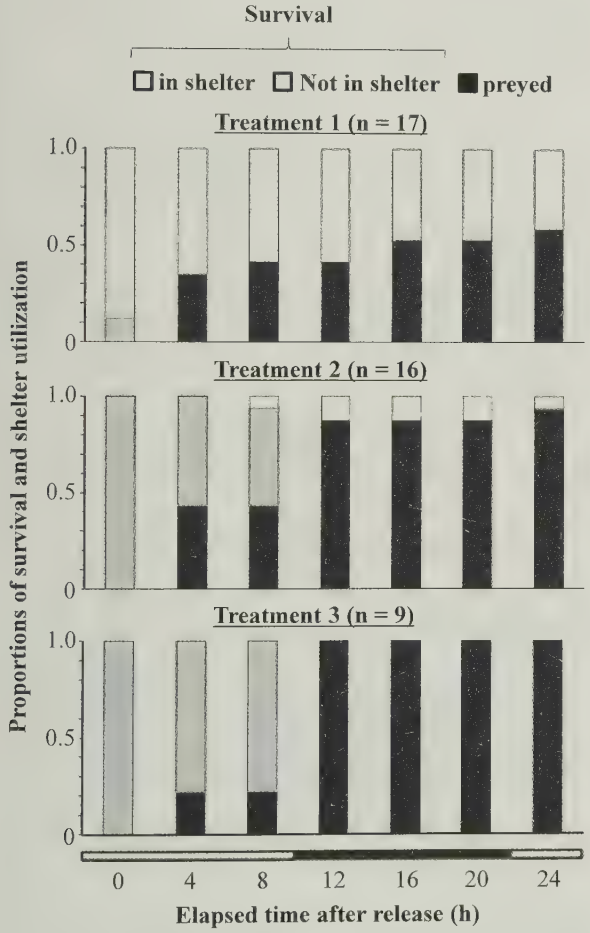


Fig. 10. Time-series survival and shelter utilization rates of black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) under each treatment regime. Details of treatments are shown in Fig. 9. White and black bars on the bottom represent daytime and nighttime, respectively. Redrawn after Kawabata *et al.* (2011) with permission.

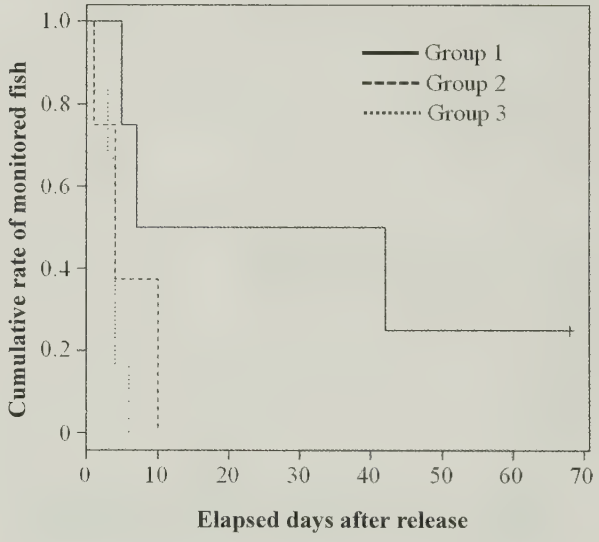


Fig. 11. Time-series retention rates of black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) in three different Groups. Group 1: black-spot tuskfish were acclimated to shelters prior to release. Group 2: black-spot tuskfish were not acclimated to shelters but environments prior to release. Group 3: black-spot tuskfish were not acclimated to shelters and environments prior to release.

うち4個体（80%）では明らかにシロクラベラとは異なる日周性（夜間における広範囲にわたる遊泳）が見られ（Fig. 12），少なくともこの4個体（80%）は放流から4日以内には捕食されたことが推測された。残り1個体については受信パターンから捕食されたのか，移出したのかを判断することはできなかった。群②では放流直後に1尾から発信機が脱落してしまい，またもう1尾は受信可能海域から移出してしまった。残り2個体については，その受信パターンから捕食されたのか，移出したのかを判別できないが，どちらも10日以内には受信が途切れた（Fig. 11）。それに対して，群①では，連続的に受信できた3個体の受信パターンはシロクラベラに本来見られるような明確な昼行性を示しており，これらの放流種苗は設置した基質もしくは周辺の岩，形成した巣穴などに隠れる行動をとっていたことが推測された　また，うち2個体は1カ月以上にわたり受信可能海域においてその生存が確認され，実験終了時の放流後68日目でも少なくとも1個体は生存していることが確認された（Fig. 11）。

この野外実験の結果は，放流前に本種種苗を放流環境下で基質に馴致させることによって，基質の利用，巣穴の形成を促すことができること，またそのような行動を発現させることによって，放流後の生残率を向上させることが可能なことを示している。今後，種苗放流によって本種の資源添加を試みる際，その放流効果の向上に「基質や巣穴への馴致」という放流手法は適用可能なツールのひとつといえるだろう。

4-3.『捕食者の学習』による被食の軽減

放流後の被食を軽減させるもうひとつの方法として，種苗による捕食者の認識能力の向上，つまり「捕食者の学習」が挙げられている。捕食者の正確な認識は個体の生存や効率的な活動において必要不可欠な能力である。いくつかの種において，捕食者の認識は生来のものではなく，学習によって獲得されるものであることが知られている。例えば，スズメダイの一種 *Dascyllus marginatus* では，着底直後の稚魚は成体とは異なり，捕食者を適切に判断することができないが，成体の対捕食者行動を視覚的に認識することによって，捕食者を判断できるようになる（Karplus *et al.*, 2006）。また，ニジマス *Oncorhynchus mykiss* では，捕食者の匂いと同種他個体が傷ついた時に出る匂いに同時に暴露された種苗は，その後しばらくの間，捕食者からの匂い（化学的刺激）によって危険を回避する行動をとる（Brown and Smith, 1998）。このような「捕食者の学習」を放流後の種苗の被食軽減に利用する試みが近年なされており，多くの種において，放流する前に種苗に捕食者を学習させることによって，種苗の捕食者回避能力を向上させられることが報告されている（例えばギンザケ *Oncorhynchus kisutch*, Olla and Davis, 1989; *Pagrus major*, 藤川・佐々木, 2001; *Paralichthys olivaceus*, Kellison *et al.*, 2002; Hossain *et al.*, 2002; Arai *et al.*, 2007）。シロクラベラにおいても，放流前に捕食者を学習させることによって種苗の捕食回避能力を向上させることができるならば，放流後の被食を軽減する手法として利用できるかもしれないと考えた。

そこで，シロクラベラ種苗（全長約56 mm）と捕食者としてカンモンハタ *Epinephelus merra*（全長180 ± 18 mm）を用いた水槽実験を行い，捕食者を学習することが種苗の捕食者回避能力におよぼす影響について調べた（河端ら 2011）。この実験ではふたつのタイプの水槽を使用した（Fig. 13a, b）。まず，ひとつめのタイプの水槽は，水深11 cmの水槽（44 cm × 29 cm）で，その水槽は水の行き来が可能で，かつ透明な仕切りによってふたつのエリアに分けられている（以下，経験用水槽，Fig. 13a）。経験用水槽の片方のエリアには捕食者1尾とその捕食者が隠れる場所として捕食者用のシェルターが1基入っている。もうひとつのタイプは，水深11 cmの水槽（87 cm × 12 cm）で，その水槽内には仕切りはなく，捕食者1尾と捕食者用シェルターが1基入っている（以下，行動観察用水槽，Fig. 13b）。以下に実験操作を概説する。

まず，経験用水槽の捕食者が入っていない方のエリアに，これから被食の様子を経験させる種苗を1尾入れた。その後，捕食者のいるエリアへ新たに他の種苗を2尾入れ，捕食者によってそれらを捕食させた。こ

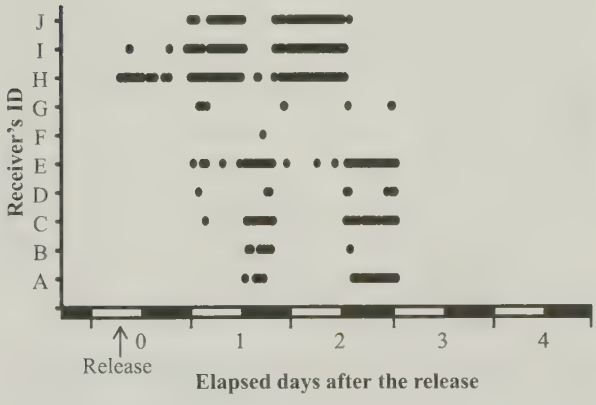


Fig. 12. Typical post-release detection pattern of a directly released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) of 125 mm in total length without acclimation to shelters and environment conditions. White and black bars at the bottom of figure indicate daytime and nighttime, respectively.

の操作によって，もう片方のエリアに先に入れていた個体に，同種他個体が捕食される様子を視覚的にも化学的にも経験させた。次に，この捕食の様子を経験した個体（以下，経験個体）を行動観察用水槽へ移し，水槽に設置した塩ビパイプ内で水槽環境に馴致した。馴致後，塩ビパイプを取り除くことによって経験個体を被食環境にさらした。行動観察用水槽内の経験個体の様子はビデオカメラによって観察し，経験個体の行動と生残について調べた（n = 6）。また，捕食の様子を経験させることによる種苗の行動や生残への影響を調べるために，経験用水槽内で捕食の様子を経験させていない種苗（以下，非経験個体，n = 6）を用いて，行動観察用水槽内で同様な行動観察を行い，その実験結果を経験個体と比較した。

実験の結果，観察中に非経験個体では全ての個体が捕食され，経験個体でも1尾を除いて全ての個体が捕食された。これは被食者が隠れる場所もなく，狭い水槽内という被食者にとって不利な実験環境に起因すると考えられた。しかし，種苗の生残や行動には経験の有無によって差が見られた。まず，経験個体は非経験個体に比べて生存期間が長かった（Fig. 14）。また行動観察の結果，種苗の被食は，種苗が捕食者のいる捕食者用シェルターから0 - 145 mm の範囲（以下，危険エリア，Fig. 13）に接近した際に起こっていたが，経験個体は非経験個体に比べて，実験開始からその危険エリアに初めて侵入するまでの時間が長かった（Fig. 15）。つまり，経験個体は捕食者を認識し，その捕食者への接近を避けていた結果，生存期間が長くなった可能性がある。しかし，ニジマスでは被食の危険を感じた場合，活動範囲や活動量を低下させることが知られている（Brown and Smith, 1998）。本実験でも経験用水槽内での捕食の様子を経験したことが，その後の経験個体の活動範囲や活動量を制限した結果，単純に捕食者への接近を遅らせ，生存期間を長くしていただけかもしれず，必ずしも被食シーンの経験が捕食者の認識につながったとは言い切れない。

そこで，経験個体が本当に捕食者への接近を避けていたのかどうかについて調べるため，行動観察用水槽内に捕食者を入れていないという点以外は，上述と同様の実験を再度行った。その結果，行動観察用水槽に捕食者がいない場合では，経験個体と非経験個体の間

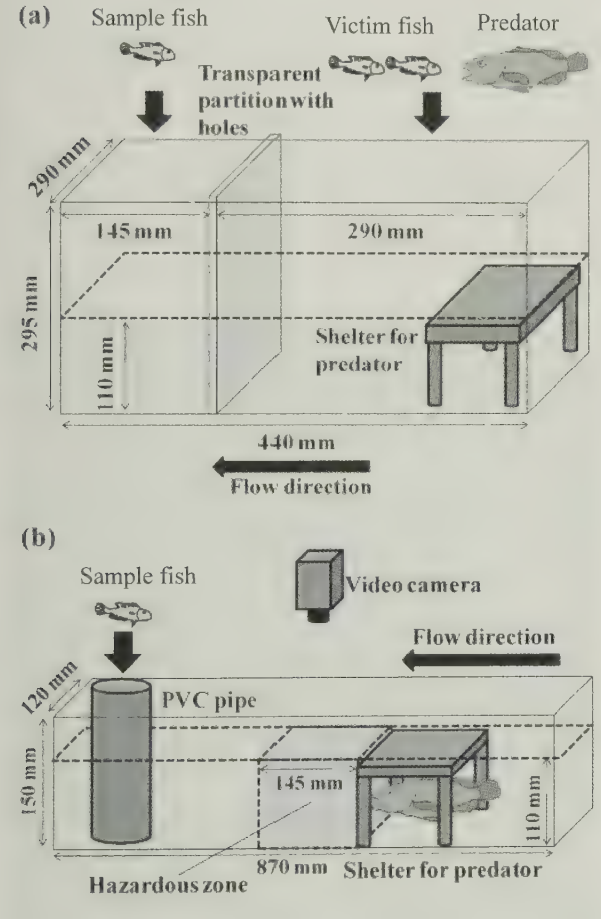


Fig. 13. Schematic drawings of the experimental tanks: (a) the experiencing tank and (b) the behavioral observation tank. The sample black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) in the behavioral observation tank was the fish that had been conditioned in the experiencing tank. The PVC pipe in the behavioral observation tank was removed when the observation was started. Redrawn afterKawabata *et al.* (2011b) with permission.

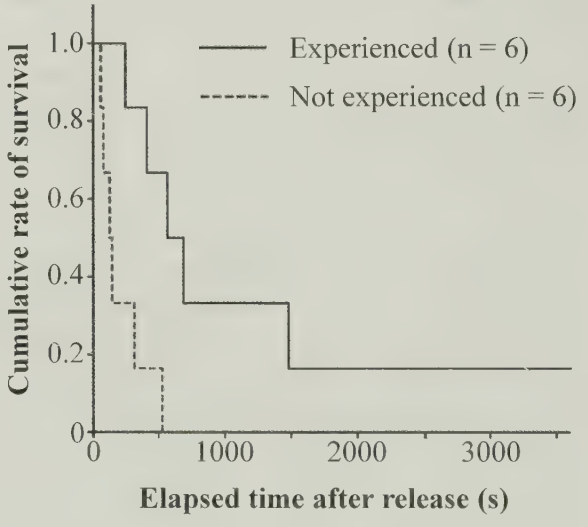


Fig. 14. Time series cumulative rates of survival of black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) in the behavior observation tank. Redrawn after Kawabata *et al.* (2011) with permission.

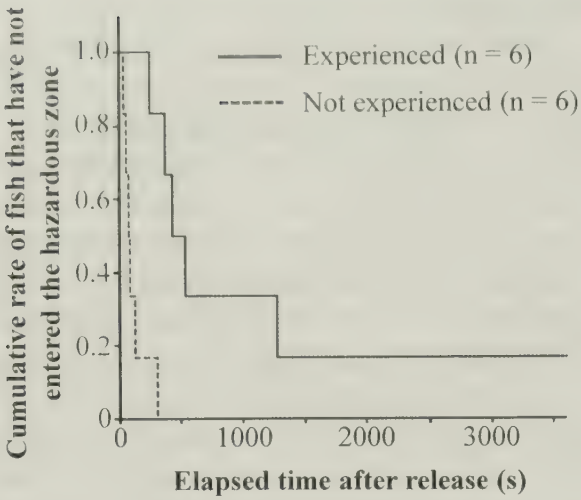


Fig. 15. Time series cumulative rates of black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) that have not entered the hazardous zone in the behavior observation tank. Redrawn after Kawabata *et al.* (2011) with permission.

で危険エリアに侵入するまでの時間に差が見られなかった。このことから先の実験において，経験個体の生存期間が長かったのは，経験個体が確実に捕食者の存在を認識して，その捕食者への接近を回避していたことによっていたと考えられた。つまり，シロクラベラでも1)捕食者を学習し，認識すること，2)放流前に種苗に捕食者を学習させることによって放流後の被食を軽減できる可能性があることがわかった。今後，捕食者を学習させた個体を野外へ放流することによって，野外環境においても「捕食者の学習」が放流後の種苗の生残に貢献するのかどうかについて調べる必要があるだろう。

しかし，野外には本種にとって様々な種類の捕食者がみられるため，放流効果をあげるためには，放流種苗に複数種の捕食者を学習させる必要があるかもしれない。もしそうならば，多様な魚食性生物すなわち潜在的捕食者が多数生息する熱帯，亜熱帯海域において，「捕食者の学習」を用いた放流種苗の被食率の軽減，それによる放流効果の向上は，種苗放流の現場で試みることはなかなか難しいだろう。これは前節の「基質や巣穴への馴致」を用いた被食率の軽減に対しても同様にいえる。本研究で示したような手法では，大量の本種種苗に対して一斉に「基質や巣穴への馴致」や「捕食者の学習」を行うことは少なくとも現段階では非現実的である。馴致や学習をより簡便にコストをかけずに，大量の種苗に対して行うことができる手法の開発に今後取り組む必要がある。

5．小型種苗を用いた種苗放流

5-1．初期生態に基づいた種苗放流

より簡便にコストをかけずに種苗を放流するには，体サイズの小さな小型種苗を放流することがその一手法として考えられる。だが，前述のように小型種苗の放流は，放流からわずか3時間後にはその姿が見られなくなり，とても放流効果のあがる方法とは考えにくい。しかし，本当に小型種苗放流は本種において適していない放流手法なのだろうか？種苗放流によって資源添加を試みる際，種苗の体サイズの他にも，放流に適しているかどうか検討すべき事項として放流時期や放流場所がある（Yamashita and Yamada, 1999）。例えば，2007年に名蔵湾にて平均全長10 mm のシロクラベラ小型種苗群を放流したが，その放流は5月上旬に高潮線付近の海草のまばらな，潮干帯域の非常に狭い砂地を放流点として行われた。放流を行った時点では，全長10 mm の本種稚魚がいつ，どのような場所に出現するのかについてほとんどわかっていなかった。つまり，小型種苗の放流に最適な時期や最適な場所（藻場などの環境状態）について十分に検討されていない状態で放流が行われた。そのため，この小型種苗の放流は効果的なものにならなかったのかもしれない。

その後，本交付金プロジェクトの他研究課題の実施を通じて本種の初期生態についての知見が大幅に蓄積されてきた。例えば，本種は体長10 - 15 mm 程度が着底サイズであり，着底稚魚は主に3月から4月にかけて，遠浅な潮間帯に形成される褐藻群落に着底することが明らかになった（Yamada *et al.*, 2012）。この知見と照らしあわせると，2007年に行った放流は明らかにその時期や場所（環境）が，種苗にとって最適ではないものだったと判断される。そのため，小型種苗放流を行う時期や場所について再検討したうえで，小型種苗を用いた放流の有効性を再評価する必要がある。また，種苗の学習能力は小さな個体ほど高いことが報告されていることから（藤川・佐々木，2001），小型種苗は放流環境への適応能力が高いと期待され，低い生産コストで実施できる小型種苗放流についてその有効性を再検討する価値は十分にある。

そこで，小型種苗放流の有効性を再評価するために，まず放流する時期と場所とを操作した小型種苗放流を行った。放流場所とした名蔵湾の岩礁性干潟では，本種の着底場所となる褐藻群落が3月から4月にかけて繁茂し，5月には枯死することがわかっている。そこで次のようなふたつの放流群を設定した。

藻場あり群：平均全長15.1 ± 1.2 mm の小型種苗群（9000尾）を4月中旬に褐藻群落内へ放流した群。

藻場なし群：平均全長14.1 ± 1.1 mm の小型種苗群（12000尾）を５月中旬に，既に褐藻群落が枯死した状態の，藻場あり群と同じ場所へ放流した群。

各放流群の放流点は２点とし，各放流点には囲い網（2 m × 2 m × 0.8 m）を１基ずつ設置した。藻場あり群では，囲い網の中に褐藻が繁茂している状態となるように囲い網を設置した。放流種苗には ALC 標識を装着し，その装着回数によって放流群を識別できるようにした。種苗を囲い網の中で放流環境に24時間馴致したのち放流した。放流群間で放流後の種苗の生残について比較するため，放流点を中心として25 - 129 m の距離に合計18点の調査定点を設定し，各調査定点において押し網（縦70 cm，幅65 cm，目合約１mm）を用いて，定期的に放流点周辺における放流種苗の滞留状況について調べた。

その結果，藻場なし群では放流後５日目を最後に，その後一切の放流種苗の再捕はなかった（Fig. 16）。それに対して，藻場あり群では放流からの日数の経過に伴い，再捕数に減少は見られたものの，調査定点で放流後29日目までは再捕が見られた（Fig. 16）。藻場あり群の放流時には，放流種苗が放流後すぐに褐藻群落の中に入り込む様子が確認され（Fig. 17），複雑な空間構造を持つ褐藻への放流が放流後の被食リスクを軽減したのかもしれない。

また，放流後における種苗の摂餌や成長について把握するために，調査定点以外の点においても放流種苗を再捕し，より多くの再捕がみられた藻場あり群についてその胃内容物や全長について調べた。その結果，放流１日後には摂餌している個体の割合は80% で，放流４日後には全ての個体が摂餌していることが確認された。また，放流種苗と同時に採集された天然個体と消化管内容物重量指数（体重あたりの消化管内容物重量 × 100）を比較したところ，放流種苗は放流４日後には天然個体とほぼ同量の餌生物を摂餌できていることがわかった（Fig. 18）。餌料重要度百分率（%IRI: 各餌生物の重量や出現頻度，摂餌個体の割合から計算される，摂餌者にとっての各餌料の重要性を表す指数，Cortés, 1997）を比較してみても，放流４日後には天

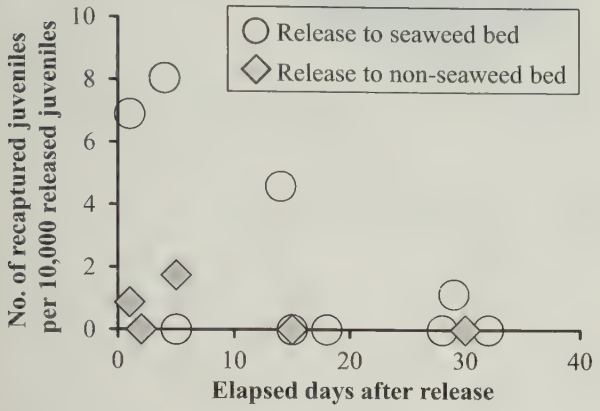


Fig. 16. Relationship between number of recaptured black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles per 10,000 released juveniles and number of elapsed days after release.

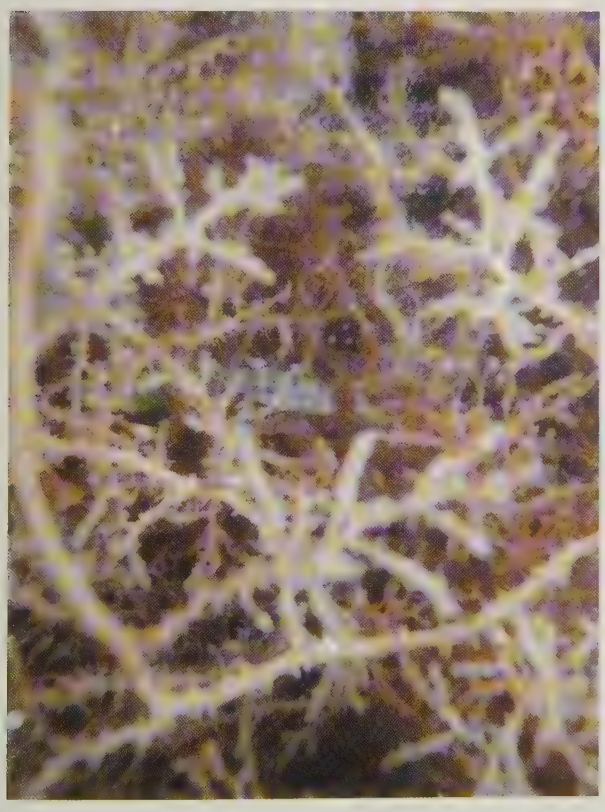


Fig. 17. A released black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juvenile hiding in seaweed bed just after release.

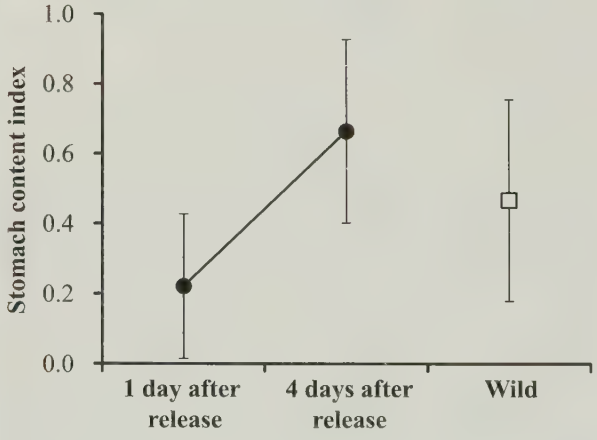


Fig. 18. Post-release change in mean (± SD) stomach content index (SCI) of hatchery-reared black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles after release to seaweed bed and the mean SCI of wild juveniles.

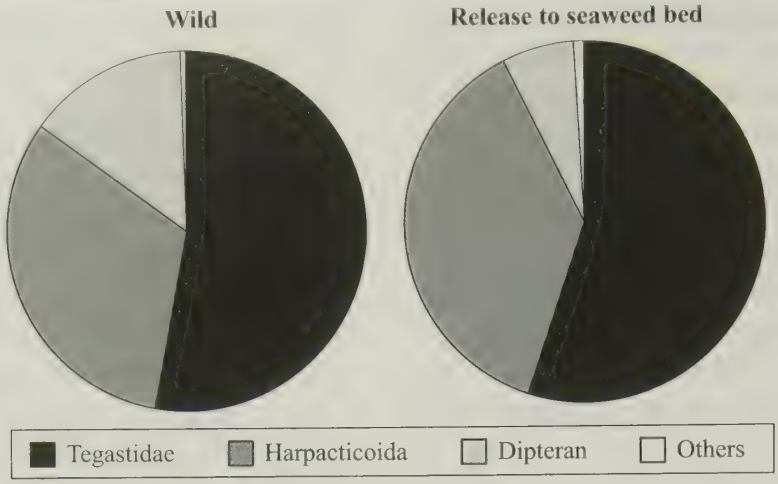


Fig. 19. Stomach contents composition (index of relative importance, IRI) of wild black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles and the IRI of hatchery-reared juveniles at 4 days after release to seaweed bed.

然個体とほぼ同様の餌生物を摂餌していることが示された（Fig. 19）。さらに，藻場あり群の放流種苗は良好な摂餌結果を示すとともに，放流後の日数の経過に伴って成長していた（Fig. 20）。

これらの小型種苗放流実験における滞留（生残）や摂餌，成長の結果から，1)小型種苗は天然と同様な摂餌能力を持っていること，2)本種小型種苗の褐藻群落への放流はその放流効果を上げるに効果的であろうことがわかり，初期生態に関する知見に基づき，その種に適切と判断される時期や場所（環境）への放流が種苗放流には重要であることが改めて認識された。

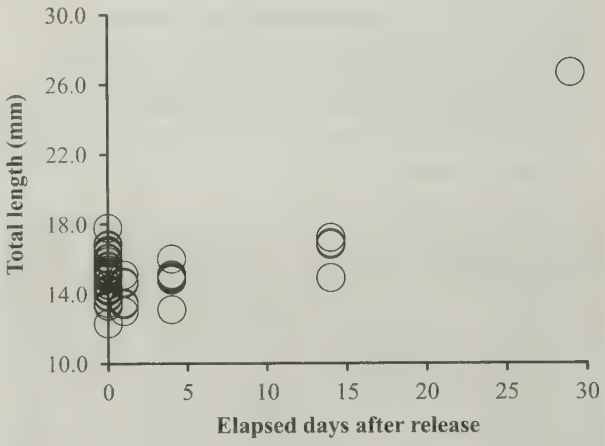


Fig. 20. Relationship between number of elapsed days after release and total length of hatchery-reared black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles that had been released to seaweed bed.

5-2. 放流密度が放流種苗の摂餌や成長に与える影響

褐藻群落への小型種苗放流は，種苗の生産コストも低く，かつ複雑な馴致操作を要しないため，今後のシロクラベラにおける有用な種苗放流方法となることが予想される。しかし，藻場のような限られた空間へ放流する場合，放流効果をさらに向上させるには，種苗の体サイズや放流時期と場所に加えて検討すべき課題に「密度効果」が挙げられる。一般に放流種苗数は放流地域の資源量と環境収容力を考慮して決定されるべきであり（Kitada and Kishino, 2006; Hamasaki and Kitada, 2008），環境収容力を超える放流が行われた際には，放流種苗は密度効果による死亡や種苗による天然資源との置き換え等が起こりうる（Kitada and Kishino, 2006）。密度効果が生じる要因には様々なものが考えられるが，例えば本種の小型個体にとって餌場としての機能を有する褐藻群落では，過剰な放流密度は放流後の種苗の摂餌や成長に対して負の効果を与えることが懸念される。

そこで，放流密度が放流後の本種種苗の摂餌や成長に与える影響について調べるために，上述の「藻場あり群」との比較対象として，次のような放流群を設定し，放流後の種苗の摂餌や成長について比較した。

分散放流群：上述の藻場あり群の放流と同年の４月下旬に，平均全長12.7 ± 1.0 mm の小型種苗群19000尾を褐藻群落18点へ分散して放流した群。

上述の藻場あり群では，２つの放流点にて囲い網による野外環境への馴致を経たのち，その２地点で集中的に種苗を放流した。そのような集中放流とは異なり，この分散放流群では，囲い網を用いた野外環境への馴

致は行わず，岩礁性干潟域のうちのおよそ13350 m^2のエリア内にて，点在する褐藻群落を合計18地点選び，各地点へ種苗をおよそ1000尾ずつ直接放流することにより，藻場あり群に比べて広い範囲へ，かつ低い密度で種苗が分散して放流されるようにした。種苗はALCの装着回数によって群を識別できるようにした。放流後は定期的に押し網によって放流種苗を再捕し，その摂餌状況や成長について調べた。

その結果，分散放流群では藻場あり群よりも早くから摂餌がみられ，放流から1.5時間後および1日後には既に全ての個体が摂餌をしていた。さらに分散放流群の消化管内容物重量指数は，放流直後から藻場あり群より高い値を示し，その群間の差は放流4日後に藻場あり群の値が上昇することによってようやく見られなくなった（Fig. 21）。また，分散放流群の消化管内容物重量指数は放流直後から既に天然個体とほぼ同等かそれ以上の高い値を示した（Fig. 21）。次に，藻場あり群と分散放流群の放流後の成長を比較したところ，より早くに，多くの摂餌をしていた分散放流群において，速い成長速度がみられた（Fig. 22）。また，分散放流群の成長速度は，天然個体のものとほぼ同等であった（Fig. 22）。

ふたつの放流群には，体サイズに若干の相違があるうえ，放流実施時期に2週間のずれがあり，餌環境や水

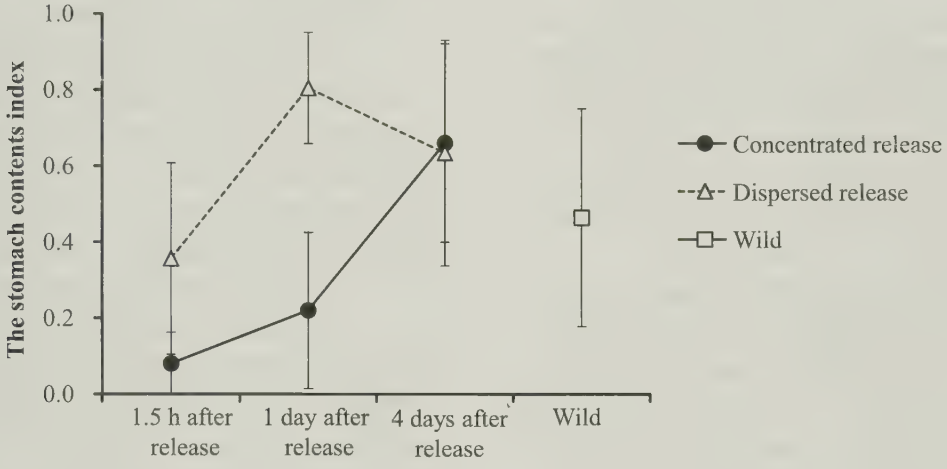


Fig. 21. Post-release changes in mean (± SD) stomach content index (SCI) of hatchery-reared black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles that had been released under various densities of conspecific juveniles and the mean SCI of wild juveniles.

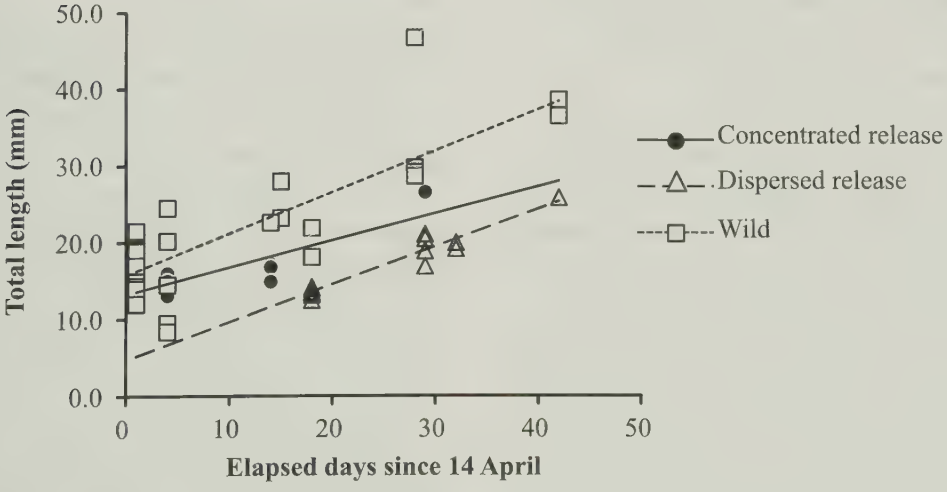


Fig. 22. Relationships between number of elapsed days after release and total length of hatchery-reared black-spot tuskfish (*Choerodon schoenleinii*) juveniles or that of wild juveniles.

温が異なるため単純に比較することはできないが，これらの結果は藻場あり群におけるある点への集中した大量放流は種苗間の餌をめぐる競争を生じさせ，種苗の摂餌と成長を制限していたことを示唆している。短期間とはいえ飢餓はその成長だけではなく，摂餌行動の俊敏性を著しく低下させることがヒラメ稚魚において報告されており（田中，1993），藻場あり群のような集中放流は放流後の被食による減耗を加速させることが懸念される。さらに，サンゴ礁性魚類において，高い生息密度下では捕食者の機能的かつ数的反応による高い被食率，つまり密度依存的な死亡が生じることからも（Webster, 2003），一時的とはいえ生息密度を高める集中放流は避けるべき放流方法と考える。ただし，餌量をはじめとした環境収容力の範囲内であり，かつ捕食者による機能的かつ数的反応がない状況，すなわち捕食者の空間分布が均一であるならば，ある程度高い密度で放流することは種苗の生残率を向上させるのに効果的な手段となりうる。適切なシロクラベラの放流密度の推定には摂餌や成長に加えて，放流密度に対する捕食者の行動的反応についても今後調べる必要があるだろう。

少なくとも本種種苗の褐藻群落への放流には適切な放流密度があり，放流効果の向上には放流密度を考慮する必要があることが明らかとなった。今後，放流密度を操作した放流を行い，放流種苗の摂餌や成長，放流密度に対する捕食者の行動的反応について調べるとともに，飼育実験によって種苗の摂餌状況と捕食回避能力の関係についてもあわせて調べることによって，本種の種苗放流における適正密度を把握することが小型種苗放流による放流効果の向上に重要である。また，適正な放流密度を把握するとともに，小型種苗が着底場所として利用する褐藻群落の量（例えば面積）や天然個体の着底量についてもあわせて調べれば，その地先への最適な放流尾数を決定することも可能となってくるだろう。

本実験では残念ながら，藻場あり群も分散放流群も放流からおよそ1カ月後の再捕を最後に，その後は放流種苗の生存は確認されなかった。この放流試験を行った年は，水温などの環境条件からか天然個体の着底時期が早く，天然個体は放流した種苗に比べて大きかった（Fig. 22）。天然個体に比べて小さかった放流種苗は野外環境における種間競争（および種内競争）において不利であったと考えられ，それが放流種苗の生残に不利に働いたのかもしれない。年変動する環境やそれに伴って変化する種間競争の強度および天然資源の産卵・着底動態の時期的変動を把握し，その年の小型種苗放流の実施に最適な時期をより詳細に捉えていくことがより効果的な小型種苗放流の実施のために重要だろう。

6．今後のシロクラベラ資源の回復に向けて

栽培漁業は資源の回復を図る資源管理ツールのひとつである（Blaxter, 2000; Bell *et al.*, 2008）。栽培漁業における種苗放流には，資源量の維持・増大にくわえ，1）天然資源による加入量変動の補償・安定化，2）マツカワやニシン *Clupea pallasii* のような崩壊資源の再構築にも貢献することが期待されている。しかし，種苗放流のみならず漁業管理による資源管理が実を結ぶ際には常に環境収容力，つまり増やそうとした資源分が利用できる余剰な環境収容力が必要となる。だが，例えば多くの種がその生活環において利用する藻場は1978年からの30年間で，干潟は1945年からの50年で，ともに約40%も日本全体で消失したと見積もられている（水産庁，2009）。シロクラベラはその初期生活史から，褐藻藻場と海草藻場との両方が連続的に存在していることが生息に不可欠であるが（Yamada *et al.*, 2012），本研究課題を実施した，本種の育成場所として知られる名蔵湾においても藻場面積の減少が懸念されおり，その藻場域の減少が現在の本種資源の低迷を招いていることが十分に考えられる。今後，本種資源の増大を試みる際は，種苗放流による効率的な資源添加技術の開発にとどまらず，本種の生息環境の保全，つまり環境収容力の維持や藻場造成による環境収容力の創出にも注力していく必要がある。これは低位水準にある他の沿岸資源においてもその回復・維持管理を達成するのに極めて重要なことだろう。

これまで熱帯，亜熱帯域において種苗放流による顕著な資源添加の成功例はみられず，残念ながら本研究課題においても実施期間中に放流種苗が水揚げされることはなかった。近年，熱帯，亜熱帯域では，藻場域の減少に加えてサンゴ礁の衰退もみられており，環境収容力の低下が懸念されている。また，他の気候帯に比べて，圧倒的に多くの種が共存するため，それぞれの種が有するニッチは狭く，種苗放流による単一種の資源量増加を図ることは困難なようにみえる。それに加えて，熱帯，亜熱帯域では水産資源として利用されている種ですら，その生活史を通した生態について明らかになっている種は少ない。

しかし，例えば八重山海域の沿岸性魚類資源における漁獲努力量あたりの漁獲量（太田ら，2007）から各々の資源量を推測すると，種によっては資源量に大きな年変動がみられ，シロクラベラの資源量にもある程度の年変動がみられる。このことはそれぞれの種のニッ

チが狭く，種苗放流による大幅な資源添加が困難であるとしても，種苗放流によってある程度の資源量の底上げが期待できることを意味するだろう。また，本種は水温などの環境変化の激しい，ごく浅い岩礁性干潟域に加入することや，産卵期と加入時期が年変動することから，毎年の加入量には大きな変動がみられる(Yamada *et al.* 2012)。そのため，例えばシロクラベラの加入量の少なかった年には，放流種苗が利用できるニッチが見込めることになり，小型種苗放流を行うことによって加入量の補償・安定化ができれば，種苗放流による本種資源への貢献は十分に期待できる。熱帯，亜熱帯域に期待される栽培漁業とは，これまで多くの魚種に対して行われてきた大量種苗放流による一代再捕型ではなく，天然資源の変動やそれによる加入量の変動を補償・安定化することを目的としたものなのではないかと考える。

本研究課題において放流魚の水揚げはみられなかったものの，本種において効果的と目される放流技術の開発は進み，さらにそれを洗練する材料となる生態的知見も十分に蓄積されてきた。今後，種苗放流による本種の資源添加の試みが，熱帯，亜熱帯における栽培漁業の進展へ貢献することを期待したい。ただ，種苗放流は資源回復を図る直接的なツールのひとつに過ぎず，上記でも触れたように環境収容力の維持・創出に加えて，漁業管理（漁獲量規制，サイズ規制，禁漁期，禁漁区等）といった間接的ツールと種苗放流が並行して行われてはじめて，熱帯，亜熱帯域における沿岸資源の回復に栽培漁業が貢献し得ることを忘れてはならない。

7．謝辞

本研究課題の実施にあたり，琉球大学理学部海洋自然科学科 立原一憲准教授，沖縄県水産海洋研究センター石垣支所 照屋忠敬前支所長，渡辺利明支所長，(独)水産総合研究センター本部の大河内裕之氏には，有益な助言や励ましを頂いたことに深く感謝致します。西海区水産研究所の亀田卓彦博士，下田徹氏，栗原健夫博士，鈴木豪博士，瀬戸内海区水産研究所の圍 重樹氏，国際水産資源研究所の阿部寧博士，また鹿熊信一郎博士をはじめ沖縄県八重山支庁農林水産整備課の皆様，長崎大学環東シナ海海洋環境資源研究センター泉田大介氏，片山翔太氏には，野外調査等において多忙な中，ご協力を賜ったことに厚く御礼を申し上げる。また，八重山漁業協同組合 上原亀一代表理事組合長には調査実施に対する協力にご快諾いただいたことに深謝致します。最後に査読者の方々には本稿に対して適切なご指導やコメントを頂いたことに感謝いたします。

8．引用文献

Arai, T., Tominaga, O., Seikai, T., and Masuda, R., 2007: Observational learning improves predator avoidance in hatchery-reared Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* juveniles. *J. Sea Res.*, **58**, 59–64.

Bell, J. D., Leber, K. M., Blankenship, H. L., Loneragan, N. R., and Masuda R., 2008: A new era for restocking, stock enhancement and sea ranching of coastal fisheries resources. *Rev. Fish. Sci.*, **16**, 1–9.

Bilton, D., Alderdice, F., and Schnute, J. T., 1982: Influence of time and size at release of juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) on returns at maturity. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **39**, 426–447.

Blaxter, J. H. S. 2000: The enhancement of marine fish stocks. *Adv. Mar. Biol.*, **38**, 1–54.

Brown, C., and Day, R., 2002: The future of stock enhancements: bridging the gap between hatchery practice and conservation biology. *Fish Fish.*, **3**, 79–94.

Brown, G. E., and Smith, R. J. F., 1998: Acquired predator recognition in juvenile rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*): conditioning hatchery-reared fish to recognize chemical cues of a predator. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **55**, 611–617.

陳炳善，野田勉，2010: クロソイ：栽培漁業による資源増殖の現状と将来展望．日本水産学会誌，**76**, 254–255.

Cortes. E.. 1997: A critical review of methods of studying fish feeding based on analysis of stomach contents: application to elasmobranch fishes. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**, 726–738.

Ellis, T., Hoowell, B. R., and Hughes, R. N., 1997: The cryptic responses of hatchery-reared sole to a natural sand substratum. *J. Fish Biol.*, **65**, 1–19.

Fairchild, E. A., and Howell, W. H., 2004: Factors affecting the post-release survival of cultured juvenile *Pseudopleuronectes americanus*. *J. Fish Biol.*, **65** (Suppl. A), 69–87.

Fairclough, D. V., Clarke, K. R., Valesini, F. J., and Potter, I. C., 2008: Habitat partitioning by five

congeneric and abundant *Choerodon* species (Labridae) in a large subtropical marine embayment. Estuar. *Coast. Shelf Sci.*, **77**, 446–456.

藤川祐司，佐々木正，2001: 人工種苗マダイの捕食者回避における学習効果．水産増殖，**49**, 151–156.

Hamasaki, K., and Kitada, S., 2008: The enhancement of abalone stocks: Lessons from Japanese case studies. *Fish Fish.*, **9**, 243–260.

Hixon, M. A., and Beets J. B., 1993: Predation, Prey Refuges, and the Structure of Coral-Reef Fish Assemblages. *Ecol. Mono.*, **63**, 77–101.

北海道，青森県，岩手県，宮城県，福島県，千葉県，鳥取県，2004: 平成15年度資源増大技術開発事業報告書 魚類Ｃグループ．1–30.

堀井豊充，片町太輔，2012: Ⅰ-3. トラフグ資源の状態．日本水産学会誌，**78**, **84**.

Hossain, M. A. R., Tanaka, M., and Masuda, R., 2002: Predator-prey interaction between hatchery-reared Japanese flounder juvenile, *Paralichthys olivaceus*, and sandy shore crab, *Matuta lunaris:* daily rhythms, anti-predator conditioning and starvation. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **267**, 1–14.

Karplus, I., Katzenstein, R., and Goren, M., 2006: Predator recognition and social facilitation of predator avoidance in coral reef fish *Dascyllus marginatus* juveniles. *Mar. Ecol. Prog.* Ser., **319**, 215–223.

Kawabata, Y., 2010: Studies on the behaviour and ecology of hatchery-reared black-spot tuskfish for its optimal release strategies. *Kyoto University Doctoral thesis.* 111pp.

Kawabata, Y., Asami, K., Kobayashi, M., Sato, T., Okuzawa, K., Yamada, H., Yoseda, K., Arai, N., 2011a: Effect of shelter acclimation on the post-release movement and putative predation mortality of hatchery-reared black-spot tuskfish *Choerodon schoenleinii,* determined by acoustic telemetry. *Fish. Sci.*, **77**, 345–355.

Kawabata, Y., Asami, K., Kobayashi, M., Sato, T., Okuzawa, K., Yamada, H., Yoseda, K., Arai, N., 2011b: Effect of shelter acclimation on the post-release survival of hatchery-reared black-spot tuskfish *Choerodon schoenleinii:* laboratory experiments using the reef-resident predator white-streaked grouper *Epinephelus ongus*. *Fish. Sci.*, **77**, 79–85.

Kawabata, Y., Okuyama, J., Asami, K., Yoseda, K., Arai, N., 2008: The post-release process of establishing stable home ranges and diel movement patterns of hatchery-reared black-spot tuskfish *Choerodon schoenleinii*. *J. Fish Biol.*, **73**, 1770–1782.

河端雄毅，山田秀秋，佐藤 琢，小林真人，平井慈恵，照屋和久，荒井修亮，2011: シロクラベラ人工種苗の被食回避における捕食者学習効果．日本水産学会誌，**77**, 625–629.

Kellison, G. T., Eggleston, D. B., and Tanaka, M., 2002: Density-dependent predation and implications for stock enhancement with Japanese flounder. *J. Fish Biol.*, **60**, 968–980.

北田修一，藤島浩晃，1997: 北海道におけるホタテガイの種苗放流効果の検討．日本水産学会誌，**63**, 686–693.

北田修一，2001: 栽培漁業と統計モデル分析，共立出版，東京，334pp.

Kitada, S., and Kishino, H., 2006: Lessons learned from Japanese marine finfish stock enhancement programmes. *Fish. Res.*, **80**, 101–112.

Kruuk, H., 1963: Diurnal periodicity in the activity of the common sole, *Solea vulgaris* Quesnel. *Netherl. J. Sea Res.*, **2**, 1–28.

松村靖治，2006: 有明海におけるトラフグ *Takifugu rubripes* 人工種苗の産卵回帰時の放流効果．日本水産学会誌，**72**, 1029–103.

村上倫哉，吉岡孝治，相田 聡，海野徹也，中川平，2005: 広島県生野島のアマモ場に放流した人工種苗メバルの放流サイズと初期生残について．日本水産学会誌，**71**, 354–362.

小畑泰弘，2006: 瀬戸内海東部海域におけるサワラの種苗放流への取り組み．日本水産学会誌，**72**, 459–462.

小畑泰弘，山崎英樹，竹森弘征，岩本明雄，奥村重信，藤本 宏，山本義久，北田修一，2007: 異なるサイズで放流したサワラ人工種苗の資源添加効率の比較．日本水産学会誌，**73**, 55–61.

大河内裕之，2006: 栽培漁業技術開発の最前線－Ⅱ 放流効果の調査手法と標識技術．日本水産学会誌，**72**, 450–453.

大島泰雄・菅野 尚，1976: 移植・放流，「新版つくる漁業」（社団法人資源協会編著），pp. 115–125.

太田格，工藤利洋，海老沢明彦，2007: 八重山海域沿岸性魚類資源の現状．平成17年度沖縄県水産試験場

事業報告書，165–175.

Olla B. L., and Davis, M. W., 1989: The role of learning and stress in predator avoidance of hatchery-reared coho salmon (*Oncorhynchus kisutch)* juveniles. *Aquaculture*, **76**, 209–214.

Secor, D. H., Houde, E. D., and Monteleone, D. M., 1995: A mark-release experiment on larval striped bass *Morone saxatilis* in a Chesapeake Bay tributary. *ICES J. Mar. Sci.*, **52**, 87–101.

島村信也，安岡真司，水野拓治，佐々木恵一，根本芳春，2007: ホシガレイに関する研究－Ⅱ 漁業実態と福島県沿岸における生活史．福島水試研報．**14**, 69–90.

Shireman, J. V., Colle, D. E., and Rottman, R. W., 1978: Size limits to predation on grass carp by largemouth bass. *Trans. Am. Fish. Soc.*, **107**, 213–215.

Sparrevohn, C. R., and Støttrup J. G., 2007: Post-release survival and feeding in reared turbot. *J. Sea Res.*, **57**, 151–161.

Sudo, H., Kajihara, N., Fujii, T., 2008: Predation by the swimming crab *Charybdis japonica* and piscivorous fishes: a major mortality fator in hatchery-reared juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* released in Mano Bay, Sado Island, Japan. *Fish. Res.*, **89**, 49–56.

水産庁，2009: 平成20年度水産白書，http://www.jfa.maff.go.jp/j/kikaku/wpaper/h20_h/index.html.

田中克，1993: 放流魚の健苗性と育成技術，放流魚の健苗性と育成技術 (北島 力編)，恒星社厚生閣，東京，pp. 19–30.

照屋和久，浜崎活幸，竹内宏行，2003a: スジアラ人工種苗の口径と捕食したデバスズメダイの最大体サイズの関係．水産増殖，**51**, 35–40.

照屋和久，浜崎活幸，皆川恵，竹内宏行，林原毅，佐野元彦，玉城泉也，2003b: 石垣島浦底湾のサンゴ礁域に放流したスジアラ人工種苗の滞留，摂餌および被食．水産増殖，**51**, 151–156.

Tsukamoto, K., Kuwada, H., Hirokawa, J., Oya, M., Sekiya, S., Fujimoto, H., and Imaizumi, K., 1989: Size-dependant mortality of red sea bream, *Pagrus major*, juveniles released with fluorescent otolith-tags in News Bay, Japan. *J. Fish Biol.*, **35** (Suppl. A), 56–69.

Webster, M. S., 2003: Temporal density dependence and population regulation in a marine fish. *Ecology*, **84**, 623–628.

Yamada, H., Nanami, A., Ohta, I., Fukuoka, K., Sato, T., Kobayashi, M., Hirai, N., Chimura, M., Akita, Y., Kawabata, Y., 2012: Occurrence and distribution during post-settlement stages of two *Choerodon* species in shallow waters around Ishigaki Island, southern Japan. *Fish. Sci.* **78**, 809–818.

Yamashita, Y., Nagahara, S., Yamada, H. and Kitagawa, D., 1994: Effects of release size on survival and growth of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in coastal waters off Iwate Prefecture northern Japan. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **105**, 269–276.

Yamashita, Y., and Yamada, H. 1999: Release strategy for Japanese flounder fry in stock enhancement programmes. In *Stock Enhancement and Sea Ranching* (eds. by Howell, B. R., Moksness, E., and Svåsand, T), Fishing News Books, Blackwell Science, Oxford, pp. 191–204.

山崎英樹，竹森弘征，岩本明雄，奥村重信，藤本 宏，山本義久，小畑泰弘，草加耕司，北田 修一，2007: 瀬戸内海東部海域におけるサワラの種苗放流効果．日本水産学会誌，**73**, 210–219.

矢野勲，小川良徳，1981: マダイ稚仔魚の遊泳速度．養殖研研報，**2**, 49–54.

Yokota, T., Mitamura, H., Arai, N., Masuda, R., Mitsunaga, Y., Itani, M., Takeuchi, H. and Tsuzaki, T., 2006: Comparison of behavioral characteristics of hatchery-reared and wild red tilefish *Branchiostegus japonicus* released in Maizuru Bay by using acoustic biotelemetry. *Fish. Sci.* **72**, 520–529.

水研センター研報，第37号，85－145，平成25年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 37, 85-145, 2013

南西諸島海域における仔魚パッチを追跡する手法を用いたクロマグロの初期生態に関する研究[*1]

佐藤　圭介[*2]

Patch study on the early life ecology of Pacific bluefin tuna, *Thunnus orientalis*, in the Nansei Islands, northwestern Pacific Ocean

Keisuke SATOH

Abstract: Annual catch of Pacific bluefin tuna (PBT), *Thunnus orientalis*, fluctuates largely from 0.9 to 3.5 ten thousand metric ton. Because the most of catch is occupied by premature (non-adult, juvenile) fish, the annual catch of this species is influenced by the recruitment variability, which varied ten-fold yearly for this species. The recruitment variability of marine fish species is generally considered to be adjusted during the early life stage from fertilization to recruitment. The long history of studies on the mechanism of recruitment variability revealed that many mechanisms and factors work simultaneously on conditioning the year class of fish during the early life stage. The factors and mechanisms are different by each species and by year even for the same species and it might be different for each spawning event. The knowledge for growth, mortality, advection and diffusion are piecemeal, and the mechanisms of recruitment variability are little known. The larvae derived from a spawning event react to biological conditions (e.g. food, predation) and physical conditions (e.g. sea temperature, sea flow) during the early life history. The year class is accumulated number of survivor during early life history. In this study, the patch study was applied, which tracked identical larval population (patch), and collected the larvae, food organisms and made oceanographic observation repeatedly. The study is expected to understand clearer relationship between environmental conditions and larval growth and survival.

The objective of this study is to provide clearer understanding of the early life ecology of Pacific bluefin tuna, especially for recruitment process in relation to environmental condition using patch tracking method (patch study) and to establish a basis for stock management in the northwestern Pacific Ocean. In the first chapter previous studies on hypotheeis of recruitment mechanism, distribution, growth and mortality of early life stage especially in larval stage were reviewed and made it clear the object of this study. In the second chapter the feasibility of detecting and tracking the larval patch was discussed. In the third chapter larval transport and distribution was studied and appropriate protocol of plankton net observation in the sea was discussed. In the last fourth chapter larval survival and growth were studied for modeling growth and survival during the larval stage.

Seven high density larval populations (patches) of PBT were tracked with reference buoys, and repeated samplings were carried out in the northwestern Pacific Ocean for 28 to 171 hours in May–June from 2004 to 2008. Before detecting patches, a number of samplings

2012年9月24日受理（Received on September24, 2012）
*1 東北大学審査学位論文（掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した）
*2 国際水産資源研究所　〒424-8633　静岡県静岡市清水区折戸5-7-1（National Research Institute of Far Seas Fisheries, 5-7-1 Orido Shimizu-ku, Shizuoka-city, Shizuoka 424-8633, Japan）

using 2-m ring plankton net, average 52 times (6 to 80 times) to catch an initial patch , were carried out. For this study, the successive collection of larvae from the same population is essential. Two pieces of evidence of the success of the trackings over several days to a week were found: the growth rates (0.2 to 0.9 mm day^{-1}) that were estimated from changes in the mode of the length frequency during each tracking closely coincided with the growth rate (0.25 to 0.85 mm day^{-1}) determined from analysis of otolith daily rings; and buoy trajectories and sea current directions showed good agreement. The PBT larvae of same patch were collected in every patch except for the Patch 8 on 2nd tracking day.

Patches consisted of a number of cohorts. The larval spatial distribution structure was studied using variograms. The range, which is one of the parameters of variograms and horizontal distance indicating no correlation of larval abundance between two stations, is considered as an indicator of horizontal distribution size of cohort. The ranges did not change significantly during trackings and the age specific ranges did not change significantly. The analysis of variogram revealed that the patch typically spread horizontally 15 km ranges and the range of cohort showed stability at least five days. Although the detailed larval horizontal distributions change in accordance with the oceanographic conditions and predation pressure, the larvae were identified one assemblage typically in 15 km range. We should make plankton net tow every 7.5 km in order to detect larval patch, and at least 30 km range in order to observe entire distribution of larval patch. Larvae were only distributed in the surface mixed layer and diel vertical movement was not clearly observed. Patches were entrained in mesoscale eddies (~100 to 500 km diameter) which propagated westward. Some of such mesoscale eddies in this area are known to coalesce with the Kuroshio Current. The spawning area and the recruitment fishing grounds are thereby linked by the Kuroshio. Results suggest that cohorts have a stable spatial structure after fertilization (i.e. during advection, while entrained in mesoscale eddies). Therefore, the spatial relationship between spawning events and mesoscale eddies is concluded to be important for the recruitment process.

The significant difference in the length frequency distributions between day and night sampling clearly indicates that net avoidance occurred. There was also a significant difference in the length frequency with different mesh apertures of the bongo net. It is likely that net extrusion occurred in the 2-m ring net. Therefore raw larval density must be corrected considering the net avoidance and net extrusion in order to obtain an estimation of the true larval density.

It is tested that the hypothesis that large body size and rapid growth rate always affect the larval survival of bluefin tuna positively, and analyzed larval growth in relation to environmental conditions. The otolith radius and its daily growth rate of the survivor (collected on later tracking days of each tracking session) tend to be larger and more rapid, respectively than those of the original (collected on earlier tracking days). A large body size was found to positively affect the survival of larval bluefin tuna, as did a rapid growth rate even at an early larval stage (after DAH 7). The otolith radius is influenced positively by sea temperature, the stratification parameter and food density and the growth rate is influenced positively by sea temperature and food density.

キーワード：クロマグロ仔魚・パッチ追跡・初期生態・成長・分布

目　次

第1章　緒言
本文中の用語に関する定義
加入変動研究
加入変動機構の仮説
パッチ研究
生活史初期の分布
マグロ類仔魚の水平分布
マグロ類仔魚の鉛直分布
仔魚パッチの水平的な大きさ
マグロ類の稚魚の分布
初期成長と生残
マグロ類仔魚の成長
マグロ類仔魚の減耗率
まとめ
第2章　パッチ発見と追跡ブイのパッチ追跡能力
試料と方法
調査海域
天然海域での採集器具，採集方法および標本の取り扱い
実験室における標本の解析
結果と考察
第3章　輸送，分布生態
試料と方法
結果
追跡ブイの軌跡
水平分布の fine-scale 構造
水平分布の mid-scale 構造
Large-scale でのパッチの分布
鉛直分布と日周鉛直移動
考察
水平分布
鉛直分布と日周鉛直移動
黒潮と中規模性渦の役割
適切な観測方法
第4章　初期成長と生残
試料と方法
ネット逃避とネット逸出の補正
耳石径，耳石の成長速度の統計解析
成長係数と減耗率
結果
ネット逃避とネット逸出
追跡中の環境要因の変動
OR および GR と環境要因の関係
大きな体サイズと速い成長速度
考察
仔魚密度の補正の必要性
OR および GR と環境要因の関係
仔魚の生残における大きな体サイズと速い成長速度の影響
要約
謝辞
参考文献
Appendix

第1章　諸言

太平洋のクロマグロ *Thunnus orientalis* は，高度回遊性魚類の1種として知られ，太平洋の温帯域の広大な外洋域を生活圏としている。太平洋クロマグロは，かつては大西洋に分布するクロマグロ *Thunnus thynnus* の地理的亜種とされていた（Gibbs & Collette 1967, Collette & Nauen 1983）が，ミトコンドリア DNA の解析からこの2種の生殖隔離が示され（Chow & Inoue 1993），現在では両種を別種とする考えが提唱されている（Collette 1999）。マグロ属はサバ科に属し，太平洋のクロマグロ（*T. orientalis*），大西洋のクロマグロ（*T. thynnus*），ミナミマグロ（*T. maccoyii*），メバチ（*T. obesus*），キハダ（*T. albacares*），ビンナガ（*T. alalunga*），タイセイヨウマグロ（*T. atlanticus*）およびコシナガ（*T. tonggol*）の8種に分類される。本論文では，太平洋のクロマグロを大西洋のクロマグロと別種として扱い，単にクロマグロと呼称する。本種は，太平洋では主として北太平洋の北緯20度から40度の温帯域に分布するが，熱帯域やオーストリアからニュージーランド近海にもわずかながら分布する（新宮ら 1974, Itoh *et al*. 2003）。0から1歳魚は日本海または太平洋側の日本沿岸を夏季に北上し，冬季に南下する（Inagake *et al*. 2001, Itoh *et al*. 2003）。2から3歳魚は北西太平洋に主に分布し，移動生態には個体による大きな違いが認められるものの，三陸沖から日付変更線付近まで海洋構造に応じた時計回りの回遊パターンを示す。未成熟魚の一部には，太平洋を横断して東部太平洋に渡り，北米西岸沖を南北に季節回遊をしながら数年滞在した後，産卵のために西部太平洋へ回帰する個体もある（伊藤 2004）。

天然海域におけるクロマグロの産卵は主として4～6月にはフィリピンから南西諸島の周辺海域（矢部ら 1966, Bayliff 1994）で起き，一部には小笠原諸島の周辺海域でも仔魚が認められ（森 1970），8月には日本海でも起きていることが知られている（沖山 1974, 西川 1986）。卵は水温26.5℃の場合，産卵後およそ24時間でふ化し（Miyashita 2002），平均的なふ化体長は約

3 mmである．ふ化後4日目で開口し，摂餌行動を開始する．ふ化後20日目で体長10 mmの稚魚になる．およそ3ヶ月後には体長30 cmに成長し，産卵域から1000 km北方の高知や長崎の曳き縄漁業の対象資源に加入する（Fig 1-1）．

本種は日本の沿岸域と北太平洋の沖合で，様々な漁法で漁獲されている。太平洋における本種の年間総漁獲量は約9千トンから3.5万トンの間で大きく変動している（Fig 1-2）．日本のほかに韓国，台湾，米国およびメキシコが主要な漁業国であり，近年は東部太平洋において，養殖種苗としてメキシコの漁獲が増加しているものの，およそ7割が日本の漁獲である（阿部ら 2010）．平成18年海面漁業生産額10,787億円のうち，2.5%がクロマグロで占められ，日本漁業の重要種であ

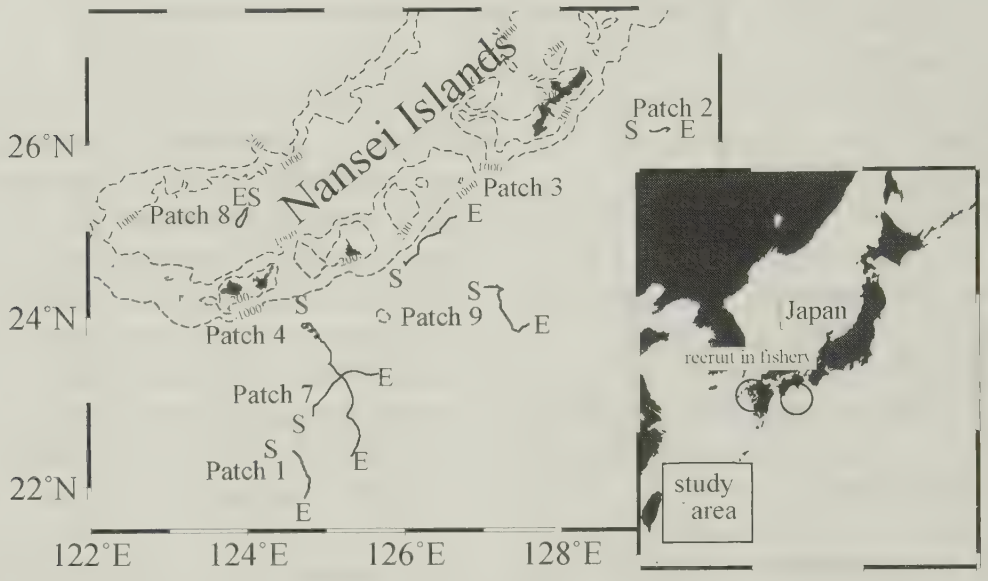


Fig. 1-1. Study region off the coast of the Nansei Islands, Japan, showing the 7 study sites and patch numbers, with buoy trajectories (solid lines) and tracking start (S) and end positions (E). Dashed lines represent 200 and 1000 m depth contours. Inset - rectangle: study site; large open circles: fishing grounds to which bluefin are recruited

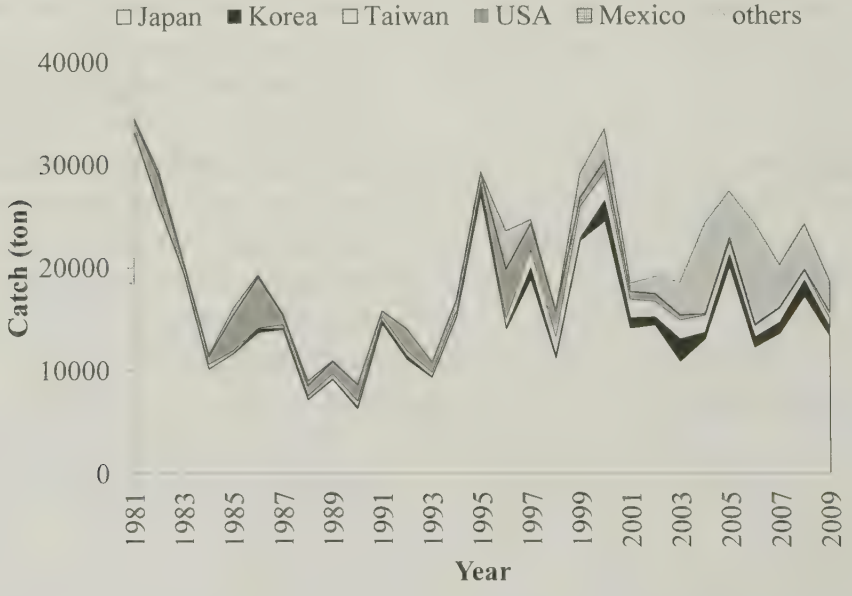


Fig. 1-2. Annual catch changes of Pacific bluefin tuna by country (from http://kokushi.job.affrc.go.jp /H22/ H22_04.pdf)

る。日本沿岸では曳縄や定置網漁業により周年にわたって主に未成魚が，まき網漁業により三陸沖および日本海の沖合で夏季から秋季に未成魚や成魚が漁獲されている。台湾東沖から奄美諸島周辺域にかけては，春季にはえ縄漁業により大型の成魚が漁獲されている。漁獲の多くはまき網や曳縄による未成魚であるため，全体の漁獲量が本種の加入変動の影響を受けやすい。クロマグロの加入量は年によっておよそ6倍から10倍異なることが知られている（Yamada *et al*. 2006, MacCall and Teo 2011）。このため，本種の加入変動機構を研究することは，資源生態学的にも資源管理方策を検討する上でも重要である。

本研究はクロマグロの加入モデルを構築しようとするプロジェクト研究の一環である。このプロジェクト研究の最終的な大きな目標はクロマグロの毎年の加入量の予測にある。予測の方法の一つとして，産みだされた個体のうち加入まで生残した個体数を足しあげたものが，その年級の加入量となると考え，産みだされた各個体が食物環境，捕食環境，水温，流れに応答し，生残（減耗）する過程をモデル化することが考えられる。より具体的には，biological-physical モデルを構築することを指す（たとえば，Allain *et al*. 2007, Gallego *et al*. 2007）。物理学的側面では，海洋循環モデルと粒子追跡モデルを作成し，仔魚を粒子と見立てて，魚1個体の経験する経時的な物理環境を（場合によっては，クロロフィル濃度などの生物環境も）推定する。生物学的側面では，粒子の出発点となる産卵生態を明らかにすることと，次いで，その後の加入までの成長・生残と環境要因との関連を明らかにすることが求められる。本研究は，最後の成長・生残生態の解明に位置づけられる。本章では，マグロ類の初期生態を中心として，これまでの研究史をまとめ，本研究の背景と意義を明らかにした。

加入変動研究

漁業には年ごとの好漁不漁がある。事前に年ごとの魚の多寡を予測することは，社会経済的に有益である。100年ほど前の人々もこの問題にとりくみ，ノルウェーの科学者 Johan Hjort を筆頭とする ICES（International Council for the Exploration of the Sea。海洋探査国際委員会）のメンバーは，魚の資源変動の要因には，それまで考えられていた，魚の移動経路の変動，漁業の変化に加えて，加入量の変動も含まれることを明らかにした。彼らは漁獲物の年齢を調査し，調査対象期間中の大西洋におけるニシンのうち，1904年生まれが大半を占めたこと，タラやハドックも1904年生まれが多いことを見いだし，ふ化してから漁業に加入するまでの間の魚の生き残りに年ごとの違いがあること，すなわち加入量に年変動が存在し，魚の資源量に影響を与えることを示したのである。これが魚の加入変動研究の先駆である（Chambers & Trippel 1997, Houde 2008, 2009）。

加入変動研究の目的には，上述の社会経済的な要求があるので，暗黙的に，加入量の予測が含まれているだろう。その情報が，資源量の将来予測や漁業管理に役立つと期待される。しかしながら，Hjort の時代からしばらくは，この方向に研究は向かわなかったようである。課題の困難さや，効率的に卵や仔魚を採集する技術に当時は乏しかったことが理由であろう。魚類資源量の大小を予測する課題に対しては，加入がすべて済んだ後に加入量を把握し，この情報をもとに親子関係を理解し，資源変動を予測する方向で研究がすすめられた（Chambers & Trippel 1997, Houde 2008, 2009）。

加入変動機構の仮説

Hjort は加入変動が起きるメカニズムについて次の二つの考えを示した（Hjort 1914, 1926）。一つは Critical period 仮説であり，もう一つは輸送仮説である。前者は，卵黄を消費した直後の最初の摂餌期（critical stage）に，成長するのに十分な食物量が得られたかで生き残りが決まるという考えである。後者は，水平的遊泳力がほぼ無いと考えられる卵や仔魚が生育に好適な場所へ輸送されるかは，産卵域の流れの状況で決まり，そのことが加入量を調整するという考えである。

効率的な採集技術の発展を待って，食物と仔魚の発生時期のタイミングが加入変動をもたらすと考える Match-mismatch 仮説（Cushing 1975），海が静穏であり成層していることが仔魚の摂餌効率に影響を与え，ひいては加入変動に影響がありそうだと想定させる（実際にはみられず，長期間にわたる稚魚期での減耗が加入量を調整すると考えられている）Stable Ocean 仮説（Lasker 1975）が示された。これらは，食物環境と加入変動の関係に注目した点では Critical period 仮説の流れをくむ（Houde 2008）。輸送環境と加入変動に注目した点では輸送仮説の拡張といえる Triangle of Migration conceptual model（Harden-Jones 1968）や Member-Vagrant 仮説（Iles & Sinclair 1982）もこの時期に示された。これらの仮説を支持する調査結果は多い。たとえば，Match-mismatch 仮説は大西洋タラ（Ellertsen *et al*. 1989, Shoji & Tanaka 2006）。Stable Ocean 仮説ではニシン（Roy *et al*. 1992）。いっぽう，仮説が成り立たない例も知られている。大西洋ニシン

は毎月限定された海域で産卵が起き，しばしば食物の発生時期とは一致していないので，Match-mismatch仮説は成り立っていないと考えられている。また，食物環境と輸送環境が同時に加入変動に影響を与えている例が，Georgeas Banksの大西洋タラ，ハドック（Page *et al*. 1999, Lough *et al*. 2006），スコシア陸棚のハドック（Campana *et al*. 1989）などで知られている1980年代には，好適な食物環境と物理環境（たとえば水温）が成長速度を高め，減耗率が高い時期が短くなることで捕食による減耗が抑えられ，ひいては加入変動が調整される考えが提唱された（Houde 1987）。これによれば，加入量は初期生活史の全期間を通じて調整される。クロマグロについても，加入魚の仔魚期の成長と，同じ時期にふ化した仔魚パッチ全体の仔魚期の成長を比べると，仔魚期に成長の良い個体が加入魚となっており，実質的に仔魚期の成長の良否が加入変動に影響を与えていることが知られている（Tanaka *et al*. 2006）。

では，体サイズが大きいこと，成長速度が高いことは，常に高い生残率につながるのだろうか　スコシア海のポラックとハドック仔魚の耳石輪紋の解析から，ハドックの成長速度と生残には相関がなく，ポラックの場合，低成長は常に低生残をもたらすが，高成長を示すコホートでは低生残も高生残もみられたことから，高い成長速度は高生残をもたらす可能性はあるが，生残を調整する要因として十分ではなく，ふ化する時期に捕食が増加すると，高成長と高生残の関係が不明瞭になると結論された（Fortier & Quinonez-Velazquez 1998）。また，カタクチイワシの仔魚について，同種の稚魚が捕食者であった場合は，低成長速度の仔魚が食べられていたが，カツオが捕食者であった場合は，仔魚の成長速度に関わらず捕食を受けていたことが示されている（Takasuka *et al*. 2004）。高成長と高生残の関係は種によっては成り立たない場合があり，捕食環境によって状況は変わりうるといえる。仮説の立案，検証の繰り返しから次第に解ってきたことは，加入変動は一つのメカニズムや要因で決まってはおらず初期生活史を通じて，多くの要素がともに働くのだろうということである（Houde 2008）。

パッチ研究

あるコホートを構成する個体が生物環境（食物環境，捕食環境），物理環境（水温，流況）へ応答し，その結果，生残した個体数を足しあげたものが，その年級の加入量となる。それぞれの要因と生残の関係を初期生活史にわたって記述して，加入変動を説明できないだろうか。個体に注目して，加入変動要因を推定する試みにはbiological-physicalモデル（たとえば，Allain *et al*. 2007, Gallego *et al*. 2007）が用いられる。物理学的側面では，海洋循環モデル（たとえば，FRA-JCOPEモデル）で特定の時空間の海洋の物理環境（水温や流況など）を再現し，粒子追跡モデルで，その物理環境における受動的な粒子の輸送を推定する。そして，粒子1個体を魚1個体と見立て，個体の経験する径時的な物理環境を（場合によっては，クロロフィル濃度や食物生物密度などの生物環境も）得る（Kasai *et al*. 2008, Kitagawa *et al*. 2010）。

魚の経験する環境要因が得られれば，その要因に対する魚の応答を別途に調査しておけば，初期生活史中の魚の生残を推定することが可能となる。各要因に対する“魚の応答”はどのような方法で得るのがよいだろうか。天然海域でも，実際に個体を追跡して，追跡中に各要因を観測し，魚の様子を観察することが考えられる。天然海域で，仔魚1個体を追跡することは非現実的なので，ある産卵イベントで生み出された高密度の仔魚パッチを追跡する。パッチを追跡し，連続的に目的生物を採集し，同時に生物的要因，物理的環境も測定することで，より明瞭に環境要因と“魚の応答”の関係を把握することが期待される。これはパッチ研究（Patch study）と呼ばれている（Davis *et al*. 1990a, Heath 1992, Dower *et al*. 2002）。パッチ研究の例として，Fortier & Leggett（1985）は，河口域においてカラフトシシャモ仔魚（*Mallotus villosus*）のパッチを追跡ブイで標識して46時間追跡しながら，2時間おきに仔魚採集を繰り返し，拡散による仔魚密度の減少がわずかであると推定し，日生残率43.7%を得た例がある。また，Heath & MacLachlan（1987）は，ニシン仔魚パッチを7日間追跡し，仔魚分布に二次元の正規分布を仮定し，日生残率98%を得た。ミナミマグロ産卵場において，Davis *et al*.（1991）は追跡ブイを用いて仔魚のパッチを追跡し，輸送-拡散-死亡モデルを用いて，1日当たり生残率52%を得た。減耗率推定だけでなく，Dower *et al*.（2002）は，カナダの大西洋沿岸で，ギンポの一種radiated shanny（*Ulvaria subbifurcata*）の仔魚パッチを複数追跡し，仔魚の成長速度が食物密度よりも主に水温によって規定される事を示した。

生活史初期の分布

クロマグロ仔魚のパッチを発見する採集方法を確立するために，まず，クロマグロの初期生活史での分布に関する既存の知見を収集した。

マグロ属の卵は形態的に一般の魚卵と区別できないために，これらの卵の地理的分布については詳しいことは分かっていない。一回の産卵シーズンに体重270か

ら300 kgのクロマグロ親魚は約1000万粒産卵すると言われている（Collette & Nauen 1983）。近年では，ミトコンドリアDNAの解析により同一個体が2から3日連続して産卵することが確認されている（Nakadate *et al.* 2011）。産卵間隔は大西洋のクロマグロで1.2日（Medina *et al.* 2002），ミナミマグロで1.62日（Farley & Davis 1998），メバチで1.09日（二階堂ら 1991），キハダで1.23～1.53日（McPherson 1991, Schaefer 2001）と推定されている。産卵時刻に関して，Miyashita (2002) は生け簀内での産卵を複数年にわたって観察し，日没前（17：00から18：50）に産卵することを報告している。いっぽう，大西洋のクロマグロについては分子生物学的な方法を用いて，卵の種同定を行い，明け方に産卵すると推定されたが（Gordoa *et al.* 2009），これは，養殖種苗用の親魚をまき網で漁獲し，まき網の漁具ごと養殖生け簀へ移動する最中の特殊な状況での知見であることには留意する必要がある。

産卵は主として4～6月にはフィリピンから南西諸島の周辺海域（矢部ら 1966, Bayliff 1994）で起きており，小笠原諸島の周辺海域でも仔魚が認められ（森 1970），8月には日本海でも起きていることが知られている（沖山 1974, 西川 1986）。主要な産卵場は南西諸島沖と日本海と考えられている。この両海域の産卵量の違いについては明らかではないが，0歳魚の耳石日輪解析から推定した誕生月の組成から，年による違いはあるものの，0歳魚漁獲量の平均76%が5，6月生まれ（南西諸島沖由来），残り24%が7，8月生まれ（日本海由来）と推定されている（伊藤 2009）。Itoh (2006) は，日本周辺で漁獲されるクロマグロの体長組成から，南西諸島沖に出現するクロマグロ成魚が日本近海ではもっとも大型の魚（尾叉長210 cm以上）であることを示した。南西諸島近海では，表面水温が25から28℃台の海域でよく仔魚が採集されており，季節的な水温上昇にあわせて産卵海域が北上することが予想される（西川ら 1985, Fig 1-3）。

マグロ類仔魚の水平分布

マグロ属5種（クロマグロ，キハダ，メバチ，ビンナガ，コシナガ）の仔魚期の種識別は，仔魚の体側に発現する黒色素胞の分布状況によって可能とされている（Matsumoto 1958, Yabe & Ueyanagi 1962, 上柳 1969, Matsumoto *et al.* 1972, 西川 1985, 西川・上柳 1991）。種同定に係わる知見の集積と並行して，数多くのマグロ類仔魚の地理的な分布調査が行われた（たとえばMatsumoto 1958, Strasburg 1960, 矢部ら 1966, 上　柳 1969, Richards & Simmons 1971, Murphy & Shomura 1972, Leis *et al.* 1991）。矢部ら（1966）は1952年から1965年まで断続的にフィリピン東北，南西諸島近海および東経180°以西の北西太平洋海域でのサンプルよりクロマグロ仔魚を得た。その出現域は北西太平洋のおよそ北緯20°以北，西はバシー水域から東は東経150°付近までに及んでいることを示した。なかでも西川ら（1985）の研究は，日本全国の水産試験場船，

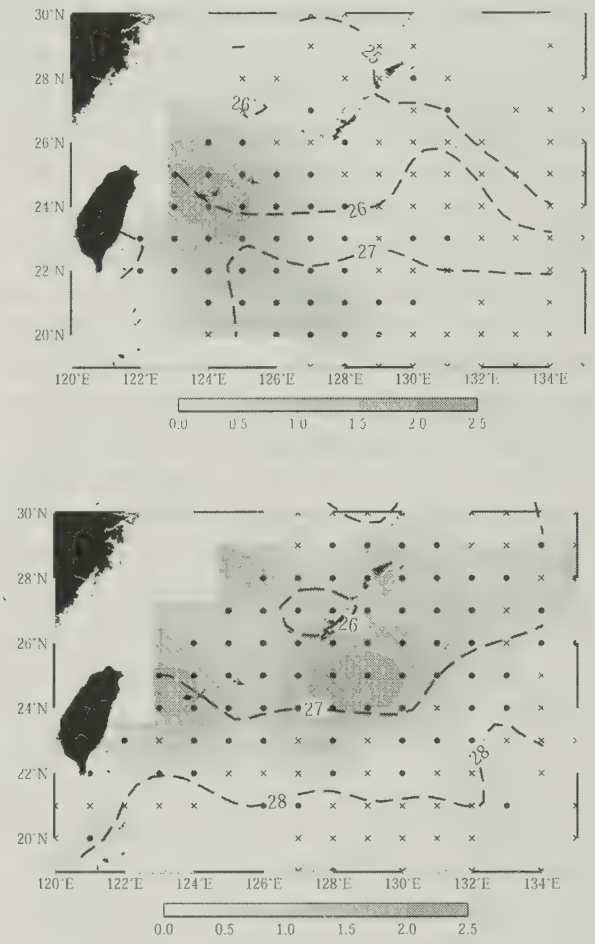


Fig. 1-3. Larval density (shaded area) of Pacific bluefin tuna around Nansei Islands (upper panel: May; lower panel: June). Larval density is calculated monthly (May and June) and 1 by 1 degree of latitude and longitude using larval database of National Research Institute of Far Seas Fisheries, which included the larval sampling results conducted by training vessels, research vessels of each local prefectures and Japanese government research vessels from 1962 to 1988. Larval density is expressed as natural log-transformation (Ln (larval number / towing times +1)). Dashed line (sea surface temperature (℃), solid circle; station with positive collection, multiple mark; station with negative collection)

水産高等学校実習船の幅広い協力のもと，三大洋（太平洋，インド洋，大西洋）での，1956年から1981年までの長期間にわたる調査を魚種別，季節別の出現状況にまとめて貴重な情報を提供している。この西川ら(1985)にとりまとめられたデータを含むマグロ類の仔魚採集データベースが国際水産資源研究所（旧．遠洋水産研究所）に整備されている。これによれば，前述のようにクロマグロ仔魚は出現する季節，海域がマグロ類の中では，比較的，限られている。これはクロマグロの産卵期，産卵域がほかのマグロ類に比べて，限定的であることを反映している。また，1962年から1988年までの５月と６月に南西諸島沖（東経120°から135°，北緯19°から30°）で口径２ｍの稚魚ネットを用いて行われた2020回のプランクトンネット曳網の結果を集計すると，そのうち1488回（73.7%）でクロマグロ仔魚は採集されなかった。１回の曳網で100個体以上が得られるのは38回（1.9%）に過ぎなかった（Fig 1-4）。従って，クロマグロ仔魚は地理的に集中分布し，採集される場合でも仔魚密度は低いことから，採集月，採集海域，表面水温がクロマグロ仔魚分布に適当であっても，採集されないことの方が多いといえる。

ミナミマグロ仔魚もクロマグロと同様，出現海域は限定的で，インドネシア南岸と豪州北西部のインド洋の最東部でのみ９月から翌３月に出現するとされる。この２種に比べて，そのほかのマグロ類仔魚の分布は広大である。ビンナガ仔魚は北半球と南半球に分かれて，北半球では主として北緯10度から25度，台湾，ルソン島近海からハワイ諸島周辺まで幅広く出現する。また，キハダ仔魚は北緯10度から南緯10度に出現するが，東にゆくにつれて南北幅がせまくなる。また，季節的（４から６月）に日本近海に出現する。メバチ仔魚もキハダと類似の分布を示す。カツオ仔魚は最も広大な海域に出現し，日本沿岸の北緯35度からサンゴ海付近の南緯25度まで出現するが，西の方で分布密度が高く，主に西経140度より西の中西部太平洋熱帯域に分布する（田邉 2002）。

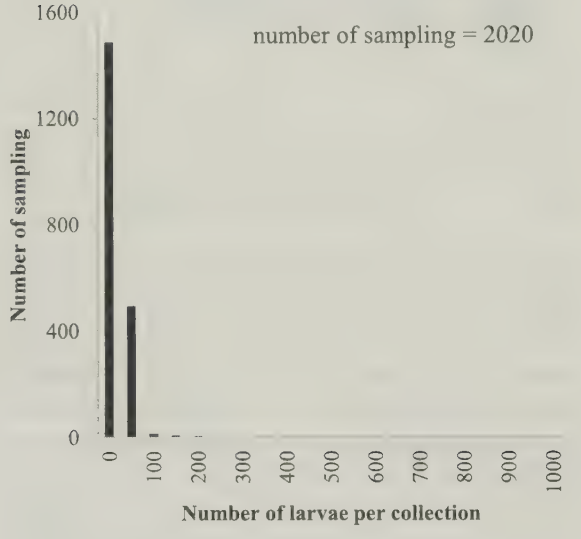


Fig. 1-4. Distribution of number of larvae per one plankton net tow of Pacific bluefin tuna from the large spatio-temporal scale surveys conducted by training vessels, research vessels of each local prefectures and Japanese government research vessels from 1962 to 1988

マグロ類仔魚の鉛直分布

Strasburg (1960) は，中部太平洋低緯度海域において，海面から水深200 ｍまでを５層に分けて昼夜別にカツオ，キハダ仔魚採集を行なった。その結果，キハダは海面から水深60 ｍまでの採集量に比べて，水深70 ｍ以深からの採集はわずかであった。このとき水温躍層は水深140 ～ 200 ｍに分布した。また，夜に多く，昼に少なく採集されることからプランクトンネットから逃避する可能性が指摘されている。矢部ら（1966）は，南西諸島近海で表層（海面から２ｍ）と亜表層（水深20 ～ 30 ｍ）での水平曳網を昼夜行い，クロマグロの仔魚が明瞭に表層に多いことを示し，表層曳網によって，本種の仔魚の水域での分布密度をおよそ推定することが出来ることを指摘した。水平方向，鉛直方向の水温傾度の大きい海域，水温躍層が水深約50 ｍになる海域に出現しがちなことも示した。また，表層では，昼間より夜間により多く出現し，亜表層ではその逆であることから，日周鉛直移動性の存在を指摘しているものの，同時にプランクトンネットからの逃避が存在するために昼間に採集されにくい可能性も指摘している。上柳（1969）はビンナガのはえ縄漁場（北緯15°から25°，東経140°から150°）における３層（海面から２ｍ層，20～30m 層，40～50 ｍ層）の昼夜の水平曳網の仔魚採集結果から，マグロ属仔魚はカツオ仔魚よりも表層に分布する傾向があること，昼間より夜間の出現率が高いこと，キハダやビンナガは昼間でも浅い層に分布していることを示した。ミナミマグロ仔魚には，昼間に表層に移動する日周鉛直移動性があることが示されている（Davis *et al.* 1990b）。Boehlert & Mundy (1994) は，ハワイ周辺海域で MOCNESS (Multiple Opening/Closing Net and Environmental Sensing System, Wiebe *et al.* 1976) を用いて海面から水深 200 ｍまで８から９層の層別採集を行い，マグロ属仔魚は水深60 ｍより浅い層にのみ出現すること，もっとも仔魚密度が高いのは水深20 ｍよりも浅い層

であること，日周鉛直移動性は観察されなかったこと，昼間の海面近くでは滅多に採集されないことを示した。このときの水温躍層は水深60から80 mであった。これらから，仔魚期におけるマグロ属の鉛直分布の特徴として，水温躍層よりも浅い層に分布し，東部太平洋のように水温躍層が浅い場合は水深40 mより浅い層，中西部太平洋低緯度海域のように深い（水深140 m以深）場合でも水深60 mより浅い層に分布し，より分布密度が高いのは海面から水深20 m程度の表層であり，混合層のより浅い層に分布する傾向があると考えることができる。海面近くでは，昼間より夜間により多く出現する傾向があり，ネット逃避が起きている可能性がある。マグロ属仔魚の日周鉛直移動性の有無については統一した見解はない。

仔魚パッチの水平的な大きさ

仔魚パッチの水平的な大きさは，短い間隔で多くの観測点を配置する方法で調査する手法がある。Miller (1973) は，オアフ島の内湾で，直線7.2 kmの観測線に30の観測点をもうけて，魚類仔魚の数百m単位の分布を明らかにした。Matsushita *et al.* (1982) は相模湾で60 mおきに20の観測点を配置し，カタクチイワシ (*Engraulis japonicus*) のパッチの微細な構造を把握した。Davis *et al.* (1990a) は，30 kmの観測線に50の観測点を設けて，ミナミマグロ仔魚（7から10日齢）の分布が水温のフロントに影響を及ぼされていることを指摘している。また，平面的な分布も調査しており，20 km × 40 kmの観測範囲に，それぞれ5 km × 15 kmに広がる2つの仔魚パッチを確認している。

以上のクロマグロ仔魚の分布に関する知見から，クロマグロ仔魚のパッチを発見するには，南西諸島沖で，5月から6月に，表面水温が25から28℃の海域で，表層の水平曳網を繰り返し行うことが適当と考えられた。また，パッチを追跡するには混合層のより上の層の流れを受けて移動するブイを用いることとした。追跡中の採集範囲はブイの周辺を約10 kmから20 km四方で採集を行うこととした。

マグロ類の稚魚の分布

マグロ類の稚魚の分布については，田邉（2002）に詳しい。遊泳力の高まった稚魚が通常のプランクトンネットで採集されることはまれで，主として，より高速に曳網出来るトロールを用いて採集される (Matsumoto 1961, King & Iversen 1962, Higgins 1970, Tanabe & Niu 1998)。敷き網 (Shimada 1951) や光を利用して稚魚を採集した例もある（Thorrold 1993)。このようにマグロ類の稚魚を採集することは技術的に可能であるが，Tanabe & Niu (1998) や田邉 (2002) で得られたように，生態学的な特性を検討するほど十分な個体数を採集するのは一般に難しい。本研究においても，網口30 m四方の表層トロールを用いて，稚魚採集を複数年試みたが，採集はほとんどされなかった。

初期成長と生残

マグロ類仔魚の成長

矢部ら（1966）は，夏から秋にかけて日本沿岸に来遊するクロマグロ加入魚の採集月と体長をプロットし，8から9月に尾叉長20から30 cmの加入魚は5月上旬から6月上旬に産卵された個体と仮定して，尾叉長45 cm以下のクロマグロの成長曲線を推定している。この曲線から読みとると，尾叉長10 cm，20 cmおよび30 cmに達するは，それぞれ，およそ40日，50日および90日かかる。Brothers *et al.* (1983) は体長4 mmから9 mmまでの天然海域で採集された大西洋クロマグロ仔魚369個体および尾叉長306 mmから413 mmの未成魚44個体の耳石日輪の測定を行ない，尾叉長10 cm，20 cmおよび30 cmに達するのにそれぞれおよそ40日，60日および100日かかると推定した。Scott *et al.* (1993) は，大西洋クロマグロ仔魚の耳石日輪を解析し，体長6 mmで耳石日輪数が10と推定した。Kaji *et al.* (1996) はクロマグロを前期仔魚期（ふ化後2日）から稚魚期（ふ化後30日）まで飼育し，前期仔魚はふ化後2日目だけに存在し，後期仔魚はふ化後3日から25日まで出現し，稚魚は25日目以降に出現した。2日目の前期仔魚で全長3.7 mm，4日目の前屈曲期で全長6.5 mm，14日目の屈曲期で全長6.5 mm，18日目の後屈曲期で全長8.8 mm，30日目の稚魚期で全長15.6 mmに成長することを明らかにした。また，消化系は3日目に形成されはじめ，11日目（およそ全長6 mm）には胃腺 (gastric gland) が形成され，同時に咽頭歯 (pharyngeal teeth) や顎歯 (jaw teeth) が機能的になり，魚食性に備えるに十分になることを指摘している。海産仔魚の消化系の発達過程をまとめたTanaka *et al.* (1996) によれば，摂餌開始直後から魚食性を示すサワラやハガツオを除いたサバ型の仔魚は，仔魚期の途中から魚食性を示すに十分なほど消化系が発達し，ほかの海産魚類仔魚とは大きく異なることを示している。Miyashita (2002) もクロマグロ飼育魚を用いて，ふ化後126日（体長371 mm）までの成長を明らかにしている。これによれば，受精卵は1.0 mm，油球の大きさは0.26 mm。ふ化仔魚の体長は2.8 mm。ふ化後3日

日で体長3.8 mmで開口し，前期仔魚は5日目まで観察された。10日目には5.6 mm，20日目には9.3 mm，30日目には30.4mmに成長した。20日目までの成長速度は0.33 mm day^{-1}と推定され，20日目から30日目では2.1 mm day^{-1}と急激に増加した。屈曲期は体長6から8 mmにみられた。完全な成魚の鰭条数（Collette & Nauen 1983）を持つ最小の個体と，不完全か鰭条数の最大の個体の体長はそれぞれ9.7 mm，10.0 mmであり，体長10 mmおよそ20日齢で稚魚期に入ると考えられる。平均的な成長でみると尾叉長10 cm，20 cmおよび30 cmに達するのにそれぞれおよそ40から50日，60日および100日かかると推定される。また，顎歯は体長7 mmから出現し，9 mmで十分に発達していたことを示した。さらに，受精してからふ化に要する時間は水温依存的であり，水温が18.9℃以下ではふ化せず，19.9℃以上28.8℃までは水温が高いほど短くなり，水温22℃で39時間30分，26.5℃で24時間25分，28℃では，24時間10分でふ化する。Tanaka *et al.*（2007）はクロマグロ稚魚の耳石日輪解析を行い，尾叉長180 mmと250 mmの天然稚魚の日齢はおよそ60日，90日であることを示した。Itoh *et al.*（2000）はクロマグロ飼育仔魚の耳石日輪を観察し，最初の耳石日輪形成がふ化後4日目，開口するときに起きることを示した。従って，ふ化後日数（DAH; day after hatch）は日輪数に4を足したものとなる。従って，これまでの大西洋のクロマグロも含めて，クロマグロの初期成長をまとめると，受精からふ化にかかる時間は水温依存的だが，南西諸島沖での5から6月の仔魚の一般的な分布水温である26から27℃台（Fig 1-3）では，およそ24時間を要し，ふ化時の体長はおよそ3.0 mmである。前期仔魚である時期は短く，ふ化後2日から5日目までである。本論文ではItoh *et al.*（2000）に従い，4日目に開口し，後期仔魚期に移行するとした。後期仔魚期の間に急速に消化系と顎歯が発達し，潜在的に魚食も可能になる。20日目に体長10 mmで稚魚期に移行したのちは，成長速度が急激に上昇する。尾叉長10 cm，20 cmおよび30 cmに達するのには，それぞれおよそ40～50日，60日および90～100日を要し，およそ100日で漁業に加入する大きさとなるといえる。

クロマグロとほかのマグロ類の初期成長を比較すると，共通点として，受精後ふ化に要する時間は水温が高い方が短く，水温23から29℃ではおよそ21から30時間前後であること，ふ化直後の体長が3.0 mm弱であることがあげられる。また，仔魚期の成長速度は0.4 mm day^{-1}前後であり，稚魚期に入ると急激に1から3 mm day^{-1}へと増加する傾向も類似した。開口までの時間は短い魚種（ふ化後35時間前後；キハダ，カツオ）と長い魚種（ふ化後4日前後；クロマグロ）がある。仔魚期はカツオが最も短く10日齢，クロマグロは20日齢，キハダは20日齢前後と考えられた。稚魚期はクロマグロとカツオについてのみ成長式が得られているが，ふ化後30日齢でカツオは体長60 mmに達するのに対し，クロマグロは30 mmであった。なお，詳細は以下の論文を参考にされたい。ミナミマグロに関しては，仔魚期の成長はJenkins & Davis（1990）とJenkins *et al.*（1991），稚魚期の成長はItoh & Tsuji（1996）に報告がある。キハダの仔魚期の成長はMori *et al.*（1971），原田ら（1980），Lang *et al.*（1994），Kaji *et al.*（1999），Wexler *et al.*（2001）およびWexler *et al.*（2007）の研究があるものの，稚魚期の報告はない。メバチの初期成長に関する知見はごく少なく，安武ら（1973）がハワイ周辺海域から得られた漁獲物を用いて船上で人工授精と最長86時間の仔魚飼育を行った結果のみである。カツオについては仔魚期の研究報告として上柳ら（1974），Radtke（1983）などがあり，稚魚期ではTanabe *et al.*（2003）の報告が詳しい。

マグロ類の減耗率

初期生活史のマグロ類の減耗率に関する知見は比較的少ない。メキシコ湾のクロマグロ仔魚について，Scott *et al.*（1993）は複数年の採集物の日齢ごとの分布密度を指数関数にあてはめて0.2 day^{-1}を得ている。メキシコ湾のキハダ仔魚について，同様のモデルで0.16から0.41day^{-1}が得られている（Lang *et al.* 1994）。また，ミナミマグロ産卵場において，Davis *et al.*（1991）は追跡ブイを用いて仔魚のパッチを追跡した結果を用いて，輸送－拡散－死亡モデル（Advection-dispersion-mortality model）を用いた結果，0.43～0.97day^{-1}という比較的高い値を得ている。また，成長と生残の関係について，Brothers *et al.*（1983）は，大西洋のクロマグロ仔魚と稚魚の最初の8輪目までの耳石径を比較して，稚魚の方が大きいことを示し，初期成長の良い個体が生残する可能性を指摘している。Tanaka *et al.*（2006）も同様に，太平洋のクロマグロの加入魚と，同じ時期にふ化した仔魚パッチ全体の成長を比べ，仔魚期に成長の良い個体が加入魚となっており，実質的に仔魚期の成長の良否が加入変動に影響を与えていることを示した。しかしながら，クロマグロ仔魚期において，常に体サイズが大きいこと，成長速度が高いことが，常に高い生残率につながるかは明らかではない。また，天然海域の太平洋のクロマグロ仔魚期の成長に関する情報は断片的であり，食物環境や水温など環境要因との関連についても明らかではない。

減耗率を推定する際に基礎になるデータは，プランクトンネット曳網などによって得られる仔魚採集結果であるが，ここには一般に２つの問題点がある。第一に仔魚が網目を通してネット外へ失われるネット逸出(net extrusion)と第二に仔魚がネットの網口から逃避するネット逃避（net avoidance）である。大きな仔魚はよりネット逃避を行いやすく，小さな仔魚ではネット逸出が起きやすく，得られた仔魚密度は偏りのあるものになっているので，これを補正する必要があると考えられる。クロマグロ仔魚に関しては，矢部ら(1966)が表層（表面から２m）での水平曳網の採集数が昼間のほうが夜間より少ないことから，昼夜の鉛直分布の違いに起因する可能性もあるが，ネット逃避が起きている可能性を指摘している。ミナミマグロについては，昼夜で採集密度が異なるため，Davis *et al.* (1991)は，昼夜の平均的な採集密度の違いを0.27と推定し，昼間の採集密度を補正している。このため，減耗率算出の際は，ネット逃避，逸出の有無と程度を推定し，採集されたクロマグロ仔魚の採集密度の補正を検討する必要がある。

まとめ

本章では，マグロ類の初期生態を中心として，これまでの研究史をまとめ，本研究の背景と意義を明らかにした。クロマグロの漁獲量の約７割を日本が占め，漁獲量の年変動が大きい。漁獲の多くは未成魚であるため，全体の漁獲量が本種の加入変動の影響を受けやすく，クロマグロの加入量は年によっておよそ６から10倍異なることが知られている。このため，本種の加入変動機構を研究することは，資源生態学的にも資源管理方策を検討する上でも重要である。多くの海産魚類において加入の年変動を決定づける時期は産卵されてから加入までの時期と考えられる。加入の年変動機構解明に関する研究は長い歴史を持ち，多くの仮説が提唱され，検証が繰り返されてきた。その過程で次第に解ってきたことは，加入変動は一つのメカニズムや要因で決まってはおらず初期生活史を通じて，多くの要素がともに働くということである。その要因は，種によって異なり，同じ種でも年によって異なり，同じ年でも産卵イベントごとに異なるのかもしれない。クロマグロ仔魚の産卵から加入までの初期生活史における減耗，輸送および拡散についての知見は断片的であり，環境要因と関連させた加入量の変動メカニズムは，ほとんどわかっていない。

個体が生物環境（食物環境，捕食環境），物理環境（水温，流況）へ応答し，その結果，生残した個体数を足しあげたものが，その年級の加入量となる。本研究では，仔魚パッチを追跡する，パッチ研究と呼ばれる手法を採用した。連続的に目的生物を採集し，同時に生物的要因，物理的環境も測定することで，より明瞭な環境要因と仔魚の成長・生残との関係の把握が期待できるからである。

本種，および近縁種の仔魚期の分布に関する知見から，クロマグロ仔魚のパッチを採集するには，南西諸島沖では５月から６月に，表面水温25から28℃周辺の海域で，多数回の表層（海面から２m）での水平曳網を行う。パッチを追跡するには海面から水深20 mまでの流れを受けて移動するブイを用いる必要があることが示唆された。クロマグロ仔魚パッチの詳細な分布構造は明らかではないが，パッチを発見した後は，ミナミマグロ仔魚の例を参考にして，ブイの周辺をおおよそ15 kmから30 km四方で採集を行うことが適当と思われた。

クロマグロは全生活史を通じて飼育が可能であるため，飼育実験によりクロマグロ仔魚期における成長は比較的知見が多く，受精からふ化にまでは24時間，ふ化時の体長はおよそ3.0 mmである。ふ化後４日目に開口し，後期仔魚期に移行する。後期仔魚期の間に急速に消化系と顎歯が発達し，潜在的に魚食も可能になる。20日目に体長10 mmで稚魚期に移行したのちは，成長速度が急激に上昇し，ふ化後100日後には尾叉長30 cmに達し，漁業に加入する。しかしながら，この成長と食物環境や水温など環境要因との関連については明らかではなく，クロマグロ仔魚期において，常に体サイズが大きいこと，成長速度が高いことが，常に高い生残率につながるかも明らかではない。また，減耗に関する知見は断片的である。減耗率算出の際は，ネット逃避，逸出の有無と程度を推定し，採集されたクロマグロ仔魚の採集密度の補正を検討する必要がある。

本論文では，クロマグロの加入変動機構の理解を深めるために，南西諸島海域において，クロマグロ仔魚パッチを追跡する手法を用いて，パッチ内のクロマグロの成長と生残と環境要因の関連を明らかにするものである。第２章ではパッチ研究の手法の妥当性，すなわち，クロマグロ仔魚パッチの発見と追跡が可能かについて論じる。第３章では，仔魚期の輸送と分布生態を把握し，適切な観測範囲および黒潮と中規模渦の加入過程における役割を議論する。第４章では，初期生活史において，成長の良否が加入変動に深く関わっていると考えられるので，成長と生残について詳しく述べる。

第2章　パッチ発見と追跡ブイのパッチ追跡能力

本研究の遂行にあたっては，パッチ発見と，そのパッチを追跡し，クロマグロ仔魚を繰り返し採集することが必須要件である。本章では，調査海域，採集器具，採集方法，標本の取り扱いなど，本論文の各章共通の材料と方法について記述するとともに，パッチ発見と追跡ブイのパッチ追跡能力について述べる。

試料と方法

調査海域

第1章で述べたように，パッチ発見にあたっては，南西諸島沖で5月から6月に，表面水温25～28℃周辺の海域で，多数回の表層（海面から2m）での水平曳網を行い，パッチを追跡するには海面から水深20 mまでの流れを受けて移動するブイを用いる必要がある。このため，それぞれの年の調査開始直前に，アメリカ海軍が提供する南西諸島周辺海域の海表面水温の人工衛星画像（http://www7320.nrlssc.navy.mil/global_ncom/ecs.html）を入手し，日本の排他的経済水域内で，表面水温26℃台の海域を調査海域に決定した。2004年から2008年の5月，6月において，南西諸島周辺海域でプランクトンネット採集によるパッチを発見するための調査を行い，パッチ発見後は追跡ブイで標識し，これを追跡しながらプランクトンネット採集と海洋観測を繰り返し行った（Fig 1-1）。

天然海域での採集器具，採集方法および標本の取り扱い

パッチ発見までは，夜間（毎晩20：00開始，翌朝5：00終了）に口径2mのリングネット（目合い0.335 mm）を用いて表層曳網（1.5 knot，5分間か10分間）を行った。観測点間隔は，ミナミマグロ仔魚のパッチの水平規模（5 km ×15 km 程度；Davis *et al*. 1990a）を参考に，5海里（およそ8から9 km）とした。1日に原則として12点を観測した。サンプルが得られたら，即座に調査船の研究室内でコッドエンドから浅底の黒色のプラスチックバットに採集生物を移し，肉眼でマグロ型の魚類仔魚（大きな頭，大きな口が特徴）を単離した。実体顕微鏡を用いて仔魚の体側に発現する黒色素胞の分布状況の基準によってクロマグロ仔魚であることを確認した（Matsumoto 1958, Yabe & Ueyanagi 1962, 上柳1969, Matsumoto *et al*. 1972, 西川 1985, 西川・上柳 1991）。パッチは追跡ブイ（Fig 2-1）で標識した。このブイは，GPSラジオブイ（太陽無線製）と水深12 mの深さにドローグ（流れを受ける抵抗体）の中心がくるように設置した長さ8m，直径1mの穴あ

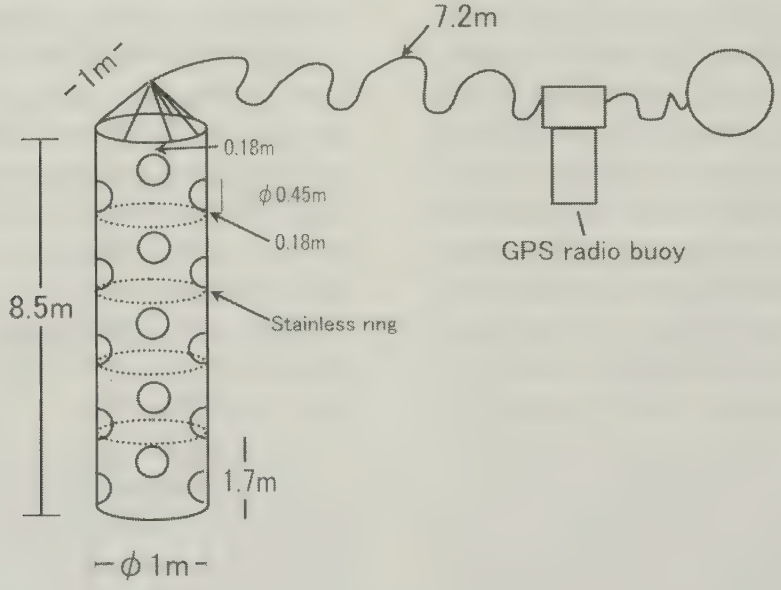


Fig. 2-1. Diagram of tracking drifter applied in this study, which is composed of a GPS radio buoy and an 8-m 'holey sock' drogue centered at a depth of 12 m, which was intended to track the current from surface to approximately 20 m depth, where PBT larvae mainly distribute

きドローグ（holey sock drogue）および浮子で構成されている。

パッチ追跡中は，口径2 mのリングネットで表層曳網と斜め曳き（水深50 mから海表面。巻き上げ時のワイヤー速度は0.6 ms^{-1}）を行った。ただし，2004年と2005年の斜め曳きは口径70 cmのボンゴネット（目合い0.335mmと0.100 mm）を用いた。2005年を除いて，夜間（毎晩20時開始，翌朝5時終了）に採集を行った。毎晩最初の観測（20時）は追跡ブイの近傍で行ない，続く観測点は，追跡ブイの周辺，おおよそ半径5 km内に配置し，原則として2004年と2006年は1日7点，2007年以降は1日5点の観測を行った。

上記の採集に加えて，特別な目的の採集を行った場合がある。2004年（Patch 1とPatch 2）には，数百m単位の小規模なスケール（fine scale）の仔魚分布を把握する目的で，0時から4時まで，ある一定方向に，1.5ノットで航走しながら，1回あたり5分間の表層曳網を20回連続で行った。観測線の長さは，それぞれ12.1 kmと12.7 kmとなった。2005年の航海（Patch 3）では仔魚の鉛直分布，日周鉛直移動性を把握する目的でMOCNESSを用いて層別採集（水深10，20，50および100 m。水平曳網5分間）を行った。このときは追跡ブイの周辺，20 km四方内に観測点（11点から15点）を配置し，昼夜の採集を行った。ただし，薄明での採集は行わなかった。2006年6月（Patch 5と6）には，より大きな範囲（large scale）でのパッチの分布を知る目的で150 km四方におよそ40 kmおきに30の観測点を設けた。なお，これらのネットの網口には単位濾水量あたりの回転数が判明している濾水計（離合社製）を取り付けた。仔魚密度は採集個体数を濾水量で除して求めた。濾水計の較正は，大森・池田（1976）の方法で，それぞれの年の最初の観測点か，波の穏やかな池間島（沖縄県 宮古島市）の内湾で行った。

クロマグロ仔魚の食物生物の密度（ind. L^{-1}）を推定するために，各観測点において表層はバケツで，2004年と2005年はニスキンボトルを用いて10 m，20 m，50 mおよび100 m深で1Lもしくは10Lを採集した。2006年以降は，口径2 mリングネットの網口に30 cmリングネット（目合い0.05 mm）を設けて採集を行った。なお，2006年は7観測点でバケツ採水による食物生物の採集も行い，採水法とネット採集で得られた採集結果に有意な違いが無いことを確認した（Fig 2-2, paired-sample t test, $P = 0.147$）。クロマグロ仔魚の主要な食物生物は，カイアシ類のノープリウス幼生か，小型のカイアシ類であることが知られている（魚谷ら1990）。クロマグロ仔魚サンプルは99.5%エタノールで固定し，24時間以内にエタノールを入れ替えた。クロマグロ仔魚の食物生物のサンプルは5%中性ホルマリンで固定した。各観測点で，最大水深500 mまでのCTD観測（SBE911, Sea-Bird Electronics）を行った。また，航海中は船底に設置したADCP（Acoustic Doppler Current Profiler, 38.4 kHz, RD Instruments）

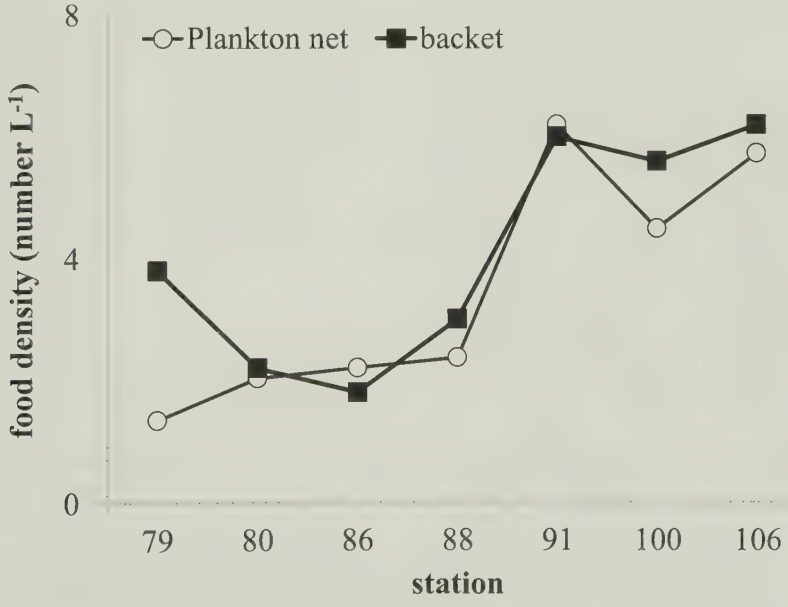


Fig. 2-2. Comparison of microzooplankton density assessed by different methods (open circle: plankton net (mesh aperture 0.05mm), solid square: water sample by bucket) collected in 2006 cruise

を用いて，水深13から21 m層の流向と流速を観測した。なお，追跡ブイのドローグは水深8～16 mに位置し，ADCP観測層と重なっている。また，船のジャイロと実際の船の船首方向のずれに起因するADCPデータの偏りを鴨下ほか（2004）の方法で修正した。パッチ追跡中は1から3時間ごとに追跡ブイのGPSの位置情報を記録し，隣り合う記録点の位置情報と時刻から追跡ブイの移動方向と速度を計算した。全ての調査航海は，独立行政法人水産総合研究センター国際水産資源研究所（旧，遠洋水産研究所）の調査船俊鷹丸（888トン）により実施された。

実験室における標本の解析

クロマグロ仔魚の体長は，実体顕微鏡を用いて，マイクロメーターで0.1 mm単位で測定した。本研究で得られたクロマグロ仔魚は，エタノール固定によって生ずる体長収縮を次の式（Satoh *et al*. 2008）で補正し，生時の標準体長（SL）として表した。SL生時（mm）= 0.96*SL固定時（mm）+ 0.67（$R^2 = 0.91$, n = 130, $P < 10^{-4}$, SL固定時 = 3.3～7.1 mm）。後期仔魚期では，脊索末端の屈曲状態（phase; 前屈曲期，屈曲期および後屈曲期）を個体ごとに記録した。ふ化後の日数（DAH）は耳石日輪計測システム（RATOC System Engineering）を用いて1000倍の生物顕微鏡を用いて1042個体（Table 2-1）の平衡石の輪紋数をカウントし，Itoh *et al*.（2000）に従って輪紋数に4を足すことで得た。また，Primordium（core）からの耳石径（μm）を測定した。

結果と考察

2004年から2008年の5月，6月において，南西諸島沖で7つのパッチを追跡ブイで標識し，最短28時間から最長171時間，追跡した。これらのパッチには発見順に続き番号で呼称した（Table 2-2, Fig 1-1）。なお，2006年6月には150 km四方に配置した30の観測点のうち7点で仔魚が採集されたが，採集密度が高かった2点についてのみPatch 5および6と称した。また，追跡0日目とはパッチを発見し，追跡ブイを投入した日を指し，翌日20：00開始翌朝5：00終了（昼夜採集を行ったPatch 3は翌日20：00まで）の一連の調査を追跡1日目とし，以降，同様に1日ずつ増やして呼称した。それぞれのパッチの採集日ごとの観測点数をAppendix 2-1に示した。ただし，この観測点数は表層曳網の観測点数であり，斜め曳きは表層曳網と同数か1回少ない観測点数であった。追跡した7つのパッチは発見までに平均52回（5から79回）の曳網を要した。発見の直前の採集点でも，クロマグロ仔魚が採集されることは少ない。これらと，過去の採集結果（例えば，西川ら 1985）とあわせて考えると，クロマグロ仔魚パッチは，単独でほかのパッチから孤立して分布している可能性が高いことが示唆される。

すべての追跡ルートの水深は1000 mを超えているため（Fig 1-1），表面の流れへの海底の影響や潮汐の影響は限定的であろう。追跡ブイは海表面より上にGPSラジオブイと浮子が出ているので，追跡ブイ全体は海域の流れだけでなく，海面上の風の影響を受けると考えられる。このため，標識した水塊とドローグの乖離が起こりうることは否定できない（Fortier & Leggett 1985, Chereskin *et al*. 1989）。しかし，追跡中のパッチごとのブイの流向，流速と，ADCPで観測した流向，流速（Fig 2-3）は，Patch 4でブイの流速分布がやや左に裾を引いていることを除けば，流向，流速ともにほぼ同じ分布を示した。このことから，使用したブイは海の表層の流れをとらえていると考えることが出来る。もし仔魚が海の流れに受動的に従っていれば，ブイ周辺で採集することで，同じパッチから仔魚が採集できる。受動的に流れていることを実証した例は少ないものの，パッチ研究の中で得られ，Heath and MacLachlan 1987（内湾），Davis *et al*. 1991（ミナミマグロ，非常な高密度）などがあげられる。本研究でも，実際に，追跡中にクロマグロ仔魚の体長組成は，体長モードが経日的に増加した（0.2～0.9 mm day^{-1}, Fig 2-4）。別途，今回，解析した全ての耳石サンプルを用いた耳石輪紋解析によるクロマグロ仔魚期の成長速度は0.25から0.85 mm day^{-1}とよく一致した（Table 2-3）。以上から，追跡中の毎日の体長組成の変化は，仔魚の毎日の成長であると考えることが出来るので，仔魚は海の流れを受動的に受けていて，仔魚の採集がごく少なかったPatch 8の追跡2日目についてを除くと，全てパッチから仔魚を採集でき，追跡採集は成功したと考えられた。

第3章　輸送，分布生態

多くの研究が仔魚期の生残過程における輸送の影響を論じてきた（たとえば，Davis *et al*. 1991, Dower *et al*. 2002, Pepin *et al*. 2002）。産卵域から摂餌海域への輸送の良否が，加入量変動を調整する要因の一つと考えられているためである。本章では，輸送や分布と加入量変動の関係を直接論じるものではなく，追跡中の分布や輸送の実態，最適なサンプリング方法を明らかにすることを目的とした。

南西諸島周辺海域は，南西側に複数の中規模性の渦，北東側に黒潮が存在する。黒潮は産卵域から，1000 km

Table 2-1. Patch name, collection date, tracking day and number of fish (total number of collection, total number for growth analysis, DAH (day after hatch) at collection distribution)

patch name	date	track day	no. of fish																		
			collected total	growth analysis (total)	DAH 4	DAH 5	DAH 6	DAH 7	DAH 8	DAH 9	DAH 10	DAH 11	DAH 12	DAH 13	DAH 14	DAH 15	DAH 16	DAH 17	DAH 18	DAH 19	DAH 20
Patch 1	2004/05/15	0	776	28				1	7	16	3	1									
	2004/05/16	1	411	100		3	16	18	12	25	17	7		2							
	2004/05/17	2	177	109					3	15	58	27	1	4	1						
Patch 2	2004/06/01	0	2433	53			2	4	9	18	15	2				1	2				
	2004/06/02	1	1701	17					3	4	3	5	1	1							
Patch 3	2005/06/02	0	184	66	12	15	29	8	2												
	2005/06/02	1	93	20	1	1	9	8	1												
	2005/06/03	2	125	34	1		5	21	6	1											
	2005/06/04	3	11	3			1	1		1											
Patch 4	2006/05/21	0	4240	11	6	1	4														
	2006/05/22	1	957	18	13	3		1	1												
	2006/05/23	2	1273	42	8	20	10	1	2												1
	2006/05/24	3	1590	87	8	22	44	10	1	2											
	2006/05/25	4	328	55		1	15	20	14	1	2	2									
	2006/05/26	5	871	59			2	11	18	25	2		1								
	2006/05/27	6	91	15			2		1	5	5	2									
	2006/05/28	7	269	34				2		2	6	9	13	2							
Patch 7	2007/05/17	0	200	16	3	9	4														
	2007/05/17	1	708	54	4	16	26	8													
	2007/05/18	2	657	76	1	2	18	40	14	1											
Patch 8	2007/05/28	0	201	33					1	4	4	8	8	2	4	1		1			
	2007/05/28	1	302	47					1		3	5	9	7	7	6	2	3		1	3
	2007/05/29	2	4	0																	
Patch 9	2008/05/24	0	7	2						2											
	2008/05/24	1	21	8						3	3	2									
	2008/05/25	2	87	34					2	5	11	13	2				1				
	2008/05/26	3	51	21					1	3		4	10	1						1	1
Total No. of fish			17768	1042	57	93	187	154	99	133	132	87	45	19	12	8	5	4	0	2	5

Table 2-2. Temperature and salinity averaged from 0 to 10 m depth, and tracking duration, date, start and end time and position. Patches 5 and 6 were not tracked

Patch name	Tracking duration (hour)	Tracking start (detection)			Tracking end		
Patch 1	54	2004/05/15 23:37	22°N25.568′	124°E34.694′	2004/05/18 05:48	21°N57.908′	124°E46.185′
Patch 2	28	2004/06/01 23:52	26°N07.599′	129°E07.920′	2004/06/03 03:55	26°N07.139′	129°E20.813′
Patch 3	77	2005/06/02 04:47	24°N35.095′	126°E00.030′	2005/06/05 09:40	25°N09.925′	126°E40.373′
Patch 4	171	2006/05/22 02:01	23°N55.495′	124°E46.611′	2006/05/29 05:08	22°N33.514′	125°E20.008′
Patch 5	-	2006/06/13 19:56	24°N30.298′	127°E39.843′			
Patch 6	-	2006/06/14 03:04	24°N29.627′	128°E19.420′			
Patch 7	48	2007/05/17 03:45	22°N57.260′	124°E52.101′	2007/05/19 03:49	23°N17.639′	125°E32.774′
Patch 8	50	2007/05/28 00:54	25°N15.011′	124°E00.002′	2007/05/30 03:16	25°N11.378′	125°E58.647′
Patch 9	69	2008/05/24 03:06	24°N21.564′	127°E00.434′	2008/05/27 00:02	23°N55.079′	127°E36.004′

Appendix 2-1. Summary of basic statistics arranged by day after hatch (DAH) on each Tracking day for surface tows: mean, maximum and coefficient of variation of larval density (ln + 1). NS: number of stations; zero: percentage of stations where no larvae were collected.

			DAH 4				DAH 5				DAH 6				DAH 7			
Patch	Track	NS	Mean	Max	CV	Zero	Mean	Max	CV	Zero	Mean	Max	CV	Zero	Mean	Max	CV	Zero
1	0	21					6.9	9.3	2.51	52%	6.5	8.1	1.37	19%	6.4	8.0	1.15	0%
	1	7					4.8	6.0	1.18	43%	5.7	6.5	0.92	29%	5.6	6.5	0.94	0%
	2	7																
2	0	21					4.2	6.5	2.38	43%	5.8	7.6	1.41	10%	6.0	7.3	0.94	0%
	1	7									0.6	1.4	1.71	71%	3.2	4.6	1.50	43%
3	0	4					7.6	8.2	0.92	25%	8.3	9.2	1.11	25%	7.9	9.0	1.35	25%
	1	11					6.0	8.1	2.46	64%	5.8	7.5	1.77	45%	5.2	7.0	1.79	45%
	2	15									1.9	3.8	2.64	87%	3.1	4.8	1.81	53%
	3	4													2.3	3.5	1.70	25%
4	0	6	16.0	17.3	1.50	0%	14.2	15.4	1.46	0%	9.9	11.0	1.22	0%	5.7	7.2	1.82	33%
	1	6	11.2	12.4	1.21	33%	11.5	13.0	1.64	33%	10.1	11.7	1.96	50%	6.8	8.4	2.07	50%
	2	7	9.5	11.2	2.00	43%	10.6	11.4	0.93	14%	9.7	10.5	0.99	14%	7.8	8.8	1.01	14%
	3	7					6.1	7.7	1.73	29%	7.2	8.5	1.28	29%	6.9	7.4	0.71	29%
	4	7					1.6	2.9	1.78	71%	4.6	5.9	1.29	43%	5.4	6.4	1.04	43%
	5	7					3.3	5.1	2.51	71%	4.3	6.0	2.06	71%	3.6	5.0	1.49	0%
	6	7									1.9	3.6	2.36	71%	2.8	4.2	1.76	71%
	7	7					3.8	5.1	1.71	71%	4.7	6.0	1.71	71%	3.2	4.7	1.85	43%
7	0	4	6.5	7.2	1.16	50%	9.7	10.3	0.90	25%	9.6	10.7	1.27	25%	8.2	9.4	1.43	25%
	1	5	5.8	7.4	2.24	80%	7.7	9.0	1.53	0%	8.0	8.9	1.22	20%	8.2	9.2	1.21	20%
	2	5	4.5	5.5	1.28	20%	6.1	7.0	0.90	0%	6.8	7.6	0.90	0%				
8	0	3					1.8	2.3	0.90	33%	4.5	5.1	0.98	33%	5.1	5.7	0.94	0%
	1	5									0.4	1.3	2.24	80%	2.2	3.1	1.38	60%
	2	5																
9	0	1																
	1	6																
	2	6																
	3	4																

			DAH 8				DAH 9				DAH 10				DAH 11			
Patch	Track	NS	Mean	Max	CV	Zero	Mean	Max	CV	Zero	Mean	Max	CV	Zero	Mean	Max	CV	zero
1	0	21	5.5	7.1	1.07	0%	3.5	4.5	0.84	0%	1.5	3.1	1.41	29%	1.9	3.2	1.32	24%
	1	7	5.3	6.3	1.07	0%	4.0	4.8	0.93	0%	3.7	5.5	2.16	0%	4.7	6.6	2.54	0%
	2	7	0.5	1.1	1.43	29%	0.7	1.2	0.86	14%	1.8	3.0	1.16	0%	5.3	7.2	2.55	0%
2	0	21	5.2	6.6	1.10	0%	4.5	6.2	1.26	0%	4.1	6.0	1.58	0%	3.3	5.0	1.53	5%
	1	7	3.7	5.2	1.68	0%	3.5	5.0	1.61	0%	4.1	5.5	1.38	0%	4.4	5.6	1.15	0%
3	0	4	6.0	7.1	1.44	25%	3.0	4.2	1.58	25%	0.4	1.1	2.00	75%	0.0	0.0	2.00	75%
	1	11	4.3	6.0	1.81	45%	3.5	5.3	2.02	45%	2.2	3.6	1.76	64%	0.7	2.5	3.11	82%
	2	15	3.1	4.5	1.40	33%	2.6	3.9	1.21	27%	1.9	3.1	1.12	33%	0.3	1.3	1.93	47%
	3	4	2.4	3.5	1.32	0%	1.2	1.7	0.67	0%	0.8	1.2	0.78	25%	0.3	0.7	1.76	25%
4	0	6	2.7	4.0	1.59	67%	0.1	0.6	2.45	83%	0.0	0.1	2.45	83%	0.1	0.5	2.45	83%
	1	6	2.9	4.5	1.98	67%	0.3	1.2	2.15	67%	0.6	1.7	2.45	83%	0.0	0.2	2.45	83%
	2	7	4.3	5.2	0.94	14%	1.3	2.5	1.50	43%	0.6	1.2	1.36	57%	0.4	1.0	1.75	71%
	3	7	5.6	6.8	1.15	29%	2.8	4.2	1.47	29%	0.7	1.6	1.36	43%	0.4	0.8	1.29	57%
	4	7	4.5	5.3	0.98	43%	3.2	4.0	1.07	29%	1.9	3.0	1.24	29%	0.9	1.5	0.99	29%
	5	7	3.3	4.2	0.93	14%	3.2	4.2	1.19	14%	3.2	4.4	1.41	14%	2.9	4.2	1.51	14%
	6	7	1.8	3.4	2.08	57%	0.6	1.8	2.03	43%	0.9	2.3	2.21	57%	1.3	2.9	2.50	71%
	7	7	1.9	2.9	1.11	14%	1.2	1.6	0.60	14%	0.8	1.2	0.75	29%	1.4	2.2	1.10	29%
7	0	4	4.4	5.4	1.31	25%	0.3	0.8	1.52	50%								
	1	5	6.4	7.4	1.28	20%	2.9	4.0	1.44	40%								
	2	5	6.4	7.1	0.91	0%	5.0	5.8	0.83	0%	2.6	3.6	1.18	20%	0.3	0.8	1.69	40%
8	0	3	3.9	4.5	0.85	0%	2.4	3.3	1.42	0%	2.3	3.1	1.13	0%	2.4	3.3	1.30	0%
	1	5	2.2	3.2	1.38	20%	1.0	1.7	1.08	20%	1.1	2.2	1.60	20%	2.2	3.5	1.79	0%
	2	5																
9	0	1	0.7	0.7		0%	1.0	1.0		0%	1.2	1.2		0%	1.0	1.0		0%
	1	6	0.6	1.8		83%	1.1	2.5		83%	1.6	3.2		67%	1.3	2.7		67%
	2	6						0.1	0.2	50%	0.5	0.9		33%	1.3	2.1		17%
	3	4	0.4	1.0	75%	1.8	3.0	50%	2.4	3.6	50%							

Appendix 2-1. (continued)

Patch	Track	NS	DAH 12 Mean	Max	CV	Zero	DAH 13 Mean	Max	CV	Zero	DAH 14 Mean	Max	CV	Zero	DAH 15 Mean	Max	CV	Zero
1	0	21	1.3	3.2	2.13	33%	0.4	2.2	3.26	52%	0.1	1.2	3.83	81%				
	1	7	4.2	6.1	2.62	29%	2.3	4.2	2.64	57%								
	2	7	6.3	8.3	2.63	0%	6.3	8.2	2.64	0%	5.4	7.3	2.64	14%				
2	0	21	1.6	3.1	1.50	10%	0.5	2.0	2.29	24%	0.4	2.3	3.75	62%	0.4	2.4	4.24	86%
	1	7	3.3	4.4	1.03	0%	1.5	2.2	0.85	0%	0.3	0.6	0.57	0%	0.1	0.3	2.22	71%
3	0	4																
	1	11																
	2	15																
	3	4																
4	0	6	0.1	0.3	2.45	83%	0.0	0.0	2.45	83%								
	1	6																
	2	7	0.1	0.4	1.83	71%	0.0	0.0	2.65	86%					0.0	0.3	2.65	86%
	3	7	0.1	0.3	1.78	57%	0.0	0.0	2.65	86%								
	4	7	0.6	1.4	1.21	29%	0.2	0.5	1.18	43%	0.1	0.2	1.72	57%				
	5	7	1.5	2.7	1.56	14%	0.5	1.5	1.98	43%	0.1	0.6	1.89	57%	0.1	0.6	2.45	71%
	6	7	1.1	2.7	2.62	71%	0.6	2.0	2.65	86%	0.2	0.9	2.65	86%				
	7	7	1.6	2.6	1.34	43%	1.9	3.1	1.46	57%	1.1	2.2	1.50	57%	0.4	1.1	1.71	57%
7	0	4																
	1	5																
	2	5																
8	0	3	1.8	2.7	1.40	0%	1.3	1.9	0.98	0%	1.0	1.5	0.89	0%	0.9	1.5	1.22	0%
	1	5	2.2	3.6	1.81	0%	2.2	3.5	1.71	0%	1.7	2.9	1.63	0%	1.4	2.6	1.76	40%
	2	5																
9	0	1	0.2	0.2		0%												
	1	6	0.1	0.3		83%	0.0	0.0		83%								
	2	6	1.3	2.0		17%	0.9	1.4		17%	0.4	0.8		17%	0.0	0.1		67%
	3	4	1.0	1.6		50%	0.9	1.8		50%	0.5	1.2		50%	0.2	0.6		75%

Patch	Track	NS	DAH 16 Mean	Max	CV	Zero	DAH 17 Mean	Max	CV	Zero	DAH 18 Mean	Max	CV	Zero
1	0	21												
	1	7												
	2	7												
2	0	21	0.2	1.4	3.37	76%	0.1	0.7	2.85	86%	0.1	0.4	2.54	86%
	1	7	0.0	0.1	2.65	86%	0.1	0.3	2.65	86%	0.1	0.3	2.65	86%
3	0	4												
	1	11												
	2	15												
	3	4												
4	0	6												
	1	6												
	2	7	0.0	0.3	2.65	86%	0.1	0.5	2.65	86%	0.0	0.3	2.65	86%
	3	7												
	4	7												
	5	7												
	6	7												
	7	7	0.2	0.5	1.72	71%								
7	0	4												
	1	5												
	2	5												
8	0	3	0.3	0.5	0.90	33%								
	1	5	1.1	2.3	1.90	40%	1.1	2.4	2.13	60%	0.7	1.7	2.01	60%
	2	5												
9	0	1												
	1	6												
	2	6	0.1	0.4		83%	0.1	0.4		83%				
	3	4	0.1	0.2		75%								

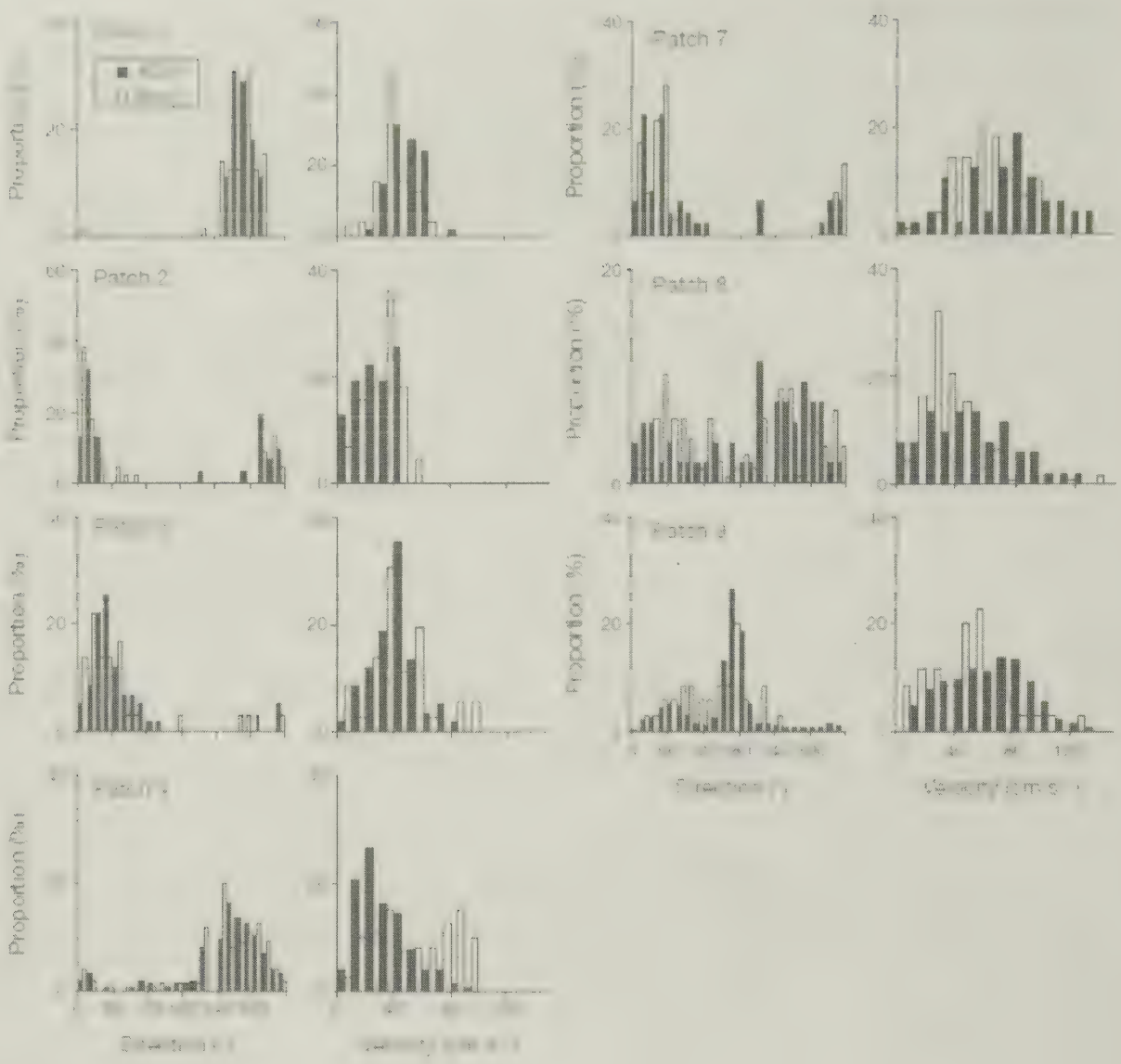


Fig. 2-3. Frequency distributions (by patch) of direction and velocity of sea surface current during each tracking period observed by Acoustic Doppler current profiler (ADCP) and a reference buoy

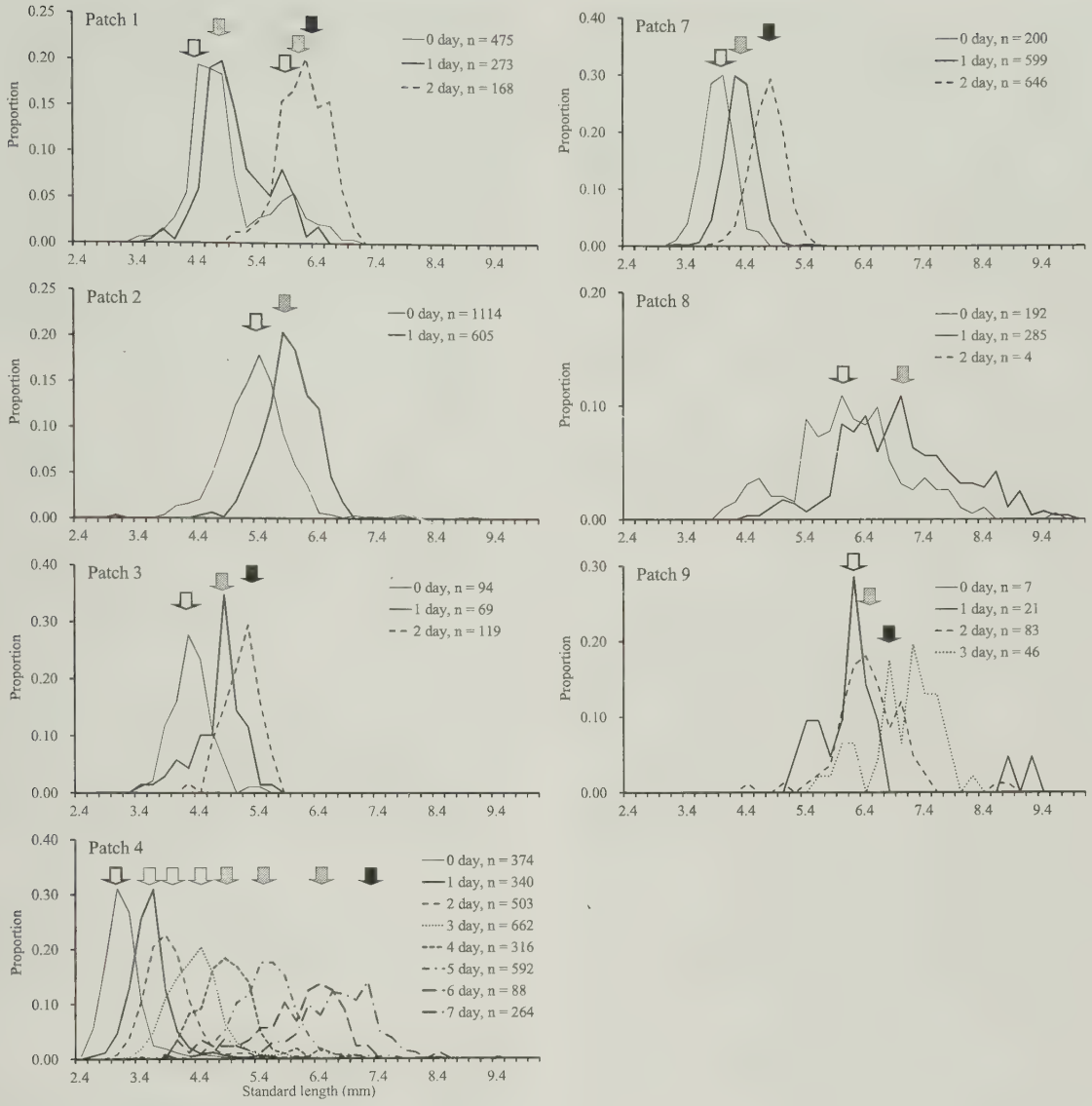

Patch 1
0 day, n = 475
1 day, n = 273
2 day, n = 168
Patch 2
0 day, n = 1114
1 day, n = 605
Patch 3
0 day, n = 94
1 day, n = 69
2 day, n = 119
Patch 4
0 day, n = 374
1 day, n = 340
2 day, n = 503
3 day, n = 662
4 day, n = 316
5 day, n = 592
6 day, n = 88
7 day, n = 264
Patch 7
0 day, n = 200
1 day, n = 599
2 day, n = 646
Patch 8
0 day, n = 192
1 day, n = 285
2 day, n = 4
Patch 9
0 day, n = 7
1 day, n = 21
2 day, n = 83
3 day, n = 46
Proportion
Standard length (mm)

Fig. 2-4. Length frequency distributions of each tracking day of each patch. Modes are indicated by white arrows (0 day), shaded arrows (intermediate tracking day) and black arrow (last day of each tracking).

Table 2-3. Otolith daily ring analysis. Growth rates (mm d^{-1}) of each day after hatch (DAH) and medians, 10th and 90th percentiles and each quartile of standard length

patch	indicator	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
		DAH	8	32.1	4.0	0.28	0.945
1 and 2	range	patch	1	5.6	5.6	0.40	0.557
		Error	5	71.2	14.2		
		DAH	5	36.8	7.4	2.01	0.300
3	range	tracking day	1	6.9	6.9	1.88	0.264
		Error	3	11.0	3.7		
		DAH	8	315.8	39.5	2.26	0.169
4	range	tracking day	4	303.6	75.9	4.34	0.055
		Error	6	105.0	17.5		
		DAH	6	10.7	1.8	0.36	0.852
5 and 6	range	tow	1	4.4	4.4	0.89	0.518
		Error	1	4.9	4.9		

北方に位置するクロマグロの加入域に向かって流れている（Fig 1-1）。中規模性渦は高気圧性と低気圧性の両方の渦があり，半径100から500 km，産卵域近海では80日間の寿命があることが知られている。表層の流速は15 から 20 cm s^{-1}であり（Ebuchi & Hanawa 2000），渦全体が7から 10 cm s^{-1}で西へ進み，渦のいくつかは黒潮と融合することが知られている（Ebuchi & Hanawa 2001）.

本章では第一に様々な水平スケール（数百 m から100 km 単位）での仔魚分布を記述する。第二に追跡中の仔魚分布の空間構造の変化を把握する。第三に水平分布と環境要因の関係を解析し，第四に日周鉛直移動性を把握する。第五に黒潮と中規模性渦の加入過程における役割を議論する（Satoh 2010）。

試料と方法

地球統計学（geostatistics）とは本来，鉱山学の手法であり，ある調査区域全体の鉱物資源の含有量を予測する方法として発展してきた。調査区域全体でボーリング調査を行うのは莫大な費用と労力の点から現実的ではない。そこで，鉱区の一部からしか得られないボーリングデータを用いて，鉱区全体を予測する手法が求められた（坂口・杉本 2004）。現在では，地質分野にとどまらず，河川に含まれる汚染物質の量を予測する環境科学，森林における植物の分布量の推定，水産学をはじめとして動物の分布解析に応用例が多い（たとえば，Rivoirard *et al*. 2000, Li *et al*. 2007, Kleisner *et al*. 2010）。この地球統計学的手法による空間予測は総称してクリギング（kriging）と呼ばれている（間瀬・武田 2001）。

本章では，水産分野での適用例（Rivoirard *et al*. 2000, Li *et al*. 2007）があり，もっとも一般的な通常クリギング（ordinary kriging）を用いた。観測点で実際に得られた仔魚密度を確率変数の集合の実現値と考え，観測点以外の場所での仔魚密度を予測する。まず，観測点ごとの仔魚密度と観測点間距離から空間の相関（バリオグラム）を調べる。このバリオグラムを経験バリオグラム（γ^*(h); experimental variogram）と呼ぶ。横軸に観測点間距離（h），縦軸に経験バリオグラムをプロットし，適当なモデルでフィットさせる。このモデルを理論バリオグラム（theoretical variogram model）と呼ぶ。経験バリオグラムは式(1)で計算される（Rivoirard *et al*. 2000）。

$$\gamma^*(h)= 0.5 * \frac{1}{N(h)} \Sigma_{x_i - x_j = h} [z(x_i) - z(x_j)]^2 \qquad (1)$$

ここで，h は観測点間の距離で，ある幅（lag）でカテゴライズする。N（h）は距離 h で隔てられている2つの観測点（xi, xj）のペア数である。z（xi）－z（xj）は観測点（xi, xj）のあるコホートの仔魚密度の差である　なお，h をカテゴライズする lag は原則として2.0 km を用いたが，特別の目的でプランクトン採集を行った場合は変更し，Patch 1と 2 の追跡 0 日目では0.5 km とし，Patch 5と 6 では，表層曳網で 8 km，斜め曳きで15 km とした。また，それぞれのコホートで仔魚密度が大きく異なるので，バリオグラムの比較を容易にするために，バリオグラムをそれぞれの分散で除して，標準化した（Rivoirard *et al*. 2000）。

観測点間距離（h）が小さいときは，仔魚密度の差も小さいことが予想されるので，バリオグラムも小さいものと考えられる。そして，h がある距離まで大きくなると，バリオグラムは頭打ちになる。このときの観測点間距離で仔魚密度の相関が失われている。この相関が失われる距離をレンジ（range）と呼ぶ。つまり，ある観測点で得られた仔魚密度が周囲に影響を及ぼす水平距離がレンジといえる。本研究ではレンジをコホートの水平的な大きさの指標とみなした。また，頭打ちになったときのバリオグラムの値をシル（sill）と呼ぶ．バリオグラムが原点ですでに大きな値を持つことがある。このバリオグラムの値をナゲット（nugget）と呼ぶ。ナゲットが存在する場合，本研究でいえば，1回のプランクトンネット採集の採集距離（net path）はおよそ250から500 m であるが，そのスケールよりも小さな範囲で仔魚が高密度分布をしていると考えられる。この 3 種類（レンジ，シルおよびナゲット）の指標は，理論バリオグラムのパラメータである。

理論バリオグラムは通常，下記の 3 種類が使用される。なお，指数型はナゲットをパラメータとして含まない。(1)球型（spherical model）γ（h）= nugget + sill [(3 h /2 range) − (h /2 range)^3]，ただし h ≦ range; γ（h）= nugget + sill，ただし h > range。(2)指数型（exponential model）γ（h）= nugget + sill [1 − exp (−h / range)]，ただし h > 0; γ（h）= 0，ただし h = 0。(3)ガウス型　(Gaussian model) γ（h）= nugget + sill [1 − exp (−h /range)^2]。ここで，γ（h）は理論バリオグラム値。経験バリオグラムを理論バリオグラムにフィットさせる際には，すべての経験バリオグラム値を用いたが，h が大きく，経験バリオグラム値が不安定な場合，最大観測点間距離の半分までの距離で得られた経験バリオグラム値を用いることが推奨されている（間瀬 & 武田 2001）ので，Patch 1と 2 の追跡日 0 日目と Patch 3においては最大観測点間距離の半分までの距離で得られた経験バリオグラム値を用いた。また，Journel & Huijbregts (1978) は，各ラグには30

以上の観測点のペアが含むことも経験バリオグラム推定の安定性のために推奨しているが，Patch 4，7，8および9では30に達していない。経験バリオグラムとモデルバリオグラムのフィットの良さを表すgoodness-of-fit（GOF）を指標とし，3種類のモデルのうち，GOFが最小のモデルを選択した。GOFは式(2)で計算される（Rivoirard *et al*. 2000）。

$$gof=\frac{\sum_h w(h)[\gamma(h)-\gamma^*(h)]^2}{\sum_h w(h)[\gamma^*(h)]^2} \quad (2)$$

ここで，$w(h)$は$\gamma^*(h)$経験バリオグラムを計算するときに用いた観測点のペア数，$\gamma(h)$は理論バリオグラム値。

もっともフィットの良かった理論バリオグラムモデルを用いて，通常クリギング（ordinary kriging）予測を式(3)で行う。

$$\hat{Z}(s_0)=\sum_{i=1}^{N} w_i Z(s_i) \quad (3)$$

ここで，S_0は観測を行っていない場所の仔魚密度，wiはその場所に対する周辺の実測仔魚密度値Z(si)の重み。理論バリオグラムへのフィットと通常クリギングはR gstat module（R Development Core Team 2009）を用いた。

パッチ輸送の実態を明らかにする目的で，海面高度より地衡流を計算した。海面高度（Sea surface height, SSH）はジオイド高（geoid height）からの偏差で示し，気象庁（http://goos.kishou.go.jp/）から5日ごとに提供されている値を用いた。この海面高度は2003年1月より，人工衛星搭載の海面高度計（TOPEX/POSEIDON and Jason 1 altimeters）により緯度経度0.25°メッシュごとに，南緯28°から北緯56°，東経118.75°から西経79.5°の範囲で得られた（Kuragano & Shibata 1997, Kuragano & Kamachi 2000, 2003）。地衡流は海面高度に基づいて計算した。

結果

追跡ブイの軌跡

追跡ブイの流向，流速がADCPで観測したブイ周辺の流向，流速と一致することは第2章で示した。追跡中の中規模性渦（海面高度から得られた地衡流）の流向，流速とブイの軌跡をFig 3-1に示した。Patch 2では，地衡流と逆に流れ，Patch 8では地衡流が弱いためか，追跡ブイの軌跡とは地衡流の流向と無関係にみえた。これらを除くと，追跡ブイは，おおむね中規模性渦に従って流れているといえる。

水平分布のfine-scale構造

ここでのfine-scaleとは，水平規模で数百m単位の仔魚分布を指す。Patch 1と2の追跡日0日目では1回5分表層曳網を20回連続で行い，結果として観測線の距離は12.1 km, 12.7 kmに達した（Fig 3-2）。両方のパッチとも複数のコホート（DAH 5から12）で構成された。Fig 3-2には各観測点のDAH 6, DAH 9, DAH12の仔魚密度を例示した。サンプリングは夜間（0時から朝4時）にのみ行われた。両方のパッチで，いくつかのコホートはすべての観測点で採集され，2つのパッチは少なくとも12 kmよりは広く分布しているといえる。観測線上の大きな水温変動（表面から水深50 mの平均値）は，Patch 1では観測線の2.1 kmから5.1 kmの間にみられ，27.4℃から27.1℃に低下した。Patch 2では，3.7 kmから6.4 kmの間に24.1℃から24.7℃へ上昇した。しかし，このような水温変動にあわせた仔魚分布の変動は明瞭にはみられなかった（Fig 3-2）。

理論バリオグラムがよくフィットしたコホート，すなわち比較的GOFが低く，現実的なレンジが推定されたコホート（Appendix 3-1にアスタリスクを付けて示した）は，Patch 1では6つ，Patch 2では8つであった。3コホートが球型，2コホートが指数型，残る9コホートがガウス型でモデル化された。DAHごとのレンジはPatch 1のDAH 5から7が低い値を示したことを除くと，おおよそ2～6 km（Fig 3-3）を示した。ばらつきはみられたものの，2つのパッチのレンジとDAHの間には有意な関係は得られなかった（ANOVA, $F = 0.28$, $P = 0.945$, Table 3-1）。なお，パッチごと，DAHごとのフィットの様子，各パラメータ，GOFはAppendix 3-1とAppendix 3-2に示した。本研究ではパッチの水平規模として，レンジにのみ注目したので，ほかのパラメータについては解析しない。

水平分布のmid-scale構造

ここでのmid-scaleは，中規模性渦とは異なり，水平規模で数km四方から20 km四方の仔魚分布を指す。追跡したコホートは82におよんだが，典型的には一つのパッチは2から3コホートを主要なコホートとして含む。主要なコホート以外では水平分布に広がりが少なく，採集されない観測点が多くなり，バリオグラムを計算することが難しくなった。とくに，1日の観測点数が少ないPatch 7，8および9ではフィットが悪かったので（Appendix 3-1），Patch 3と4についてのみ，追跡中の表層曳網の採集結果を用いて，水平分布変化を述べる。Patch 3では10コホートについて理論バリオグラムが良くあてはまった。6コホートが球

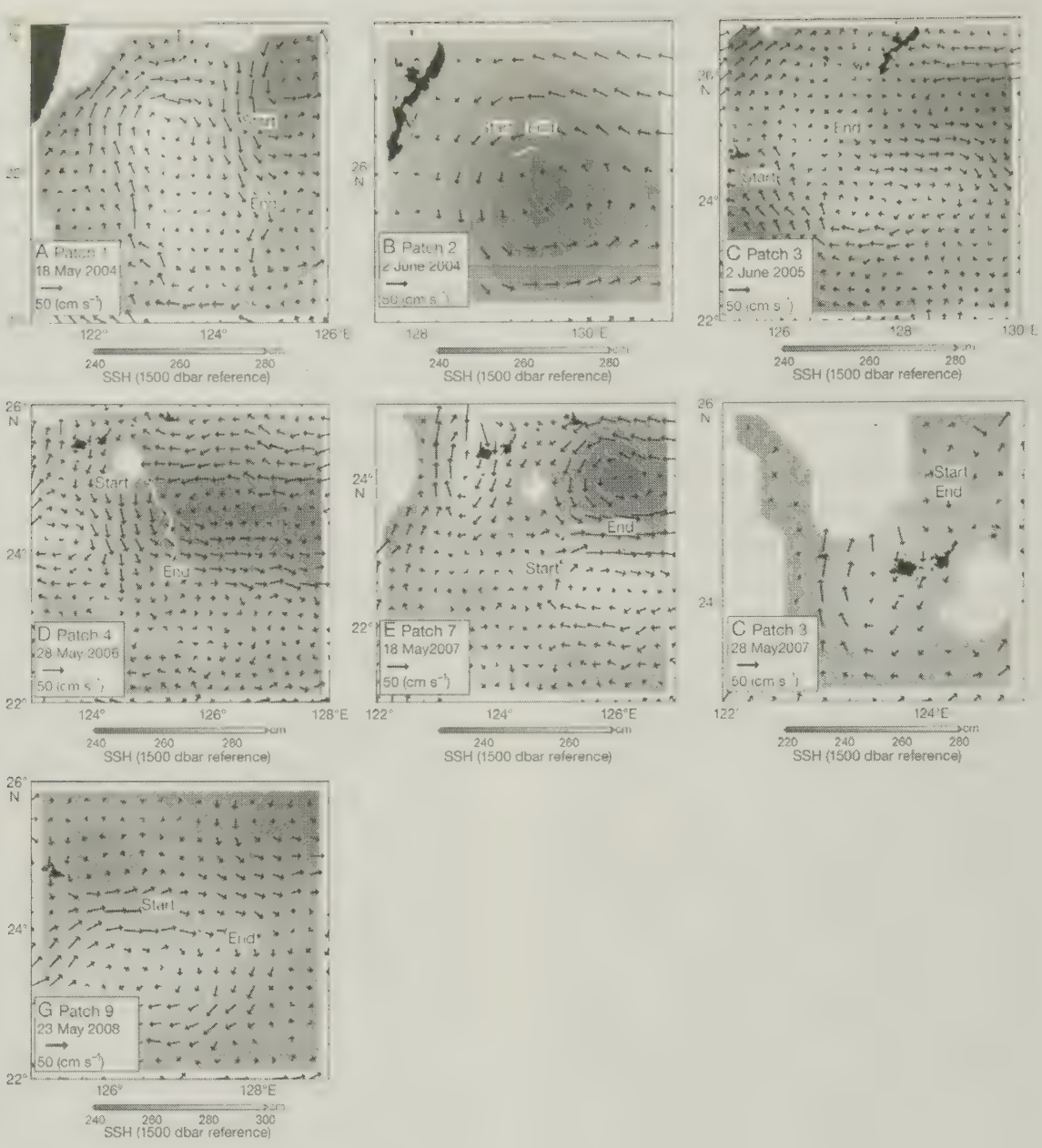


Fig. 3-1. Sea surface height (SSH), sea surface currents and buoy trajectories (white lines) for each patch. SSHs were derived from satellite altimeter data and obtained from the Japan Meteorological Agency. Geostrophic currents were calculated based on SSH data

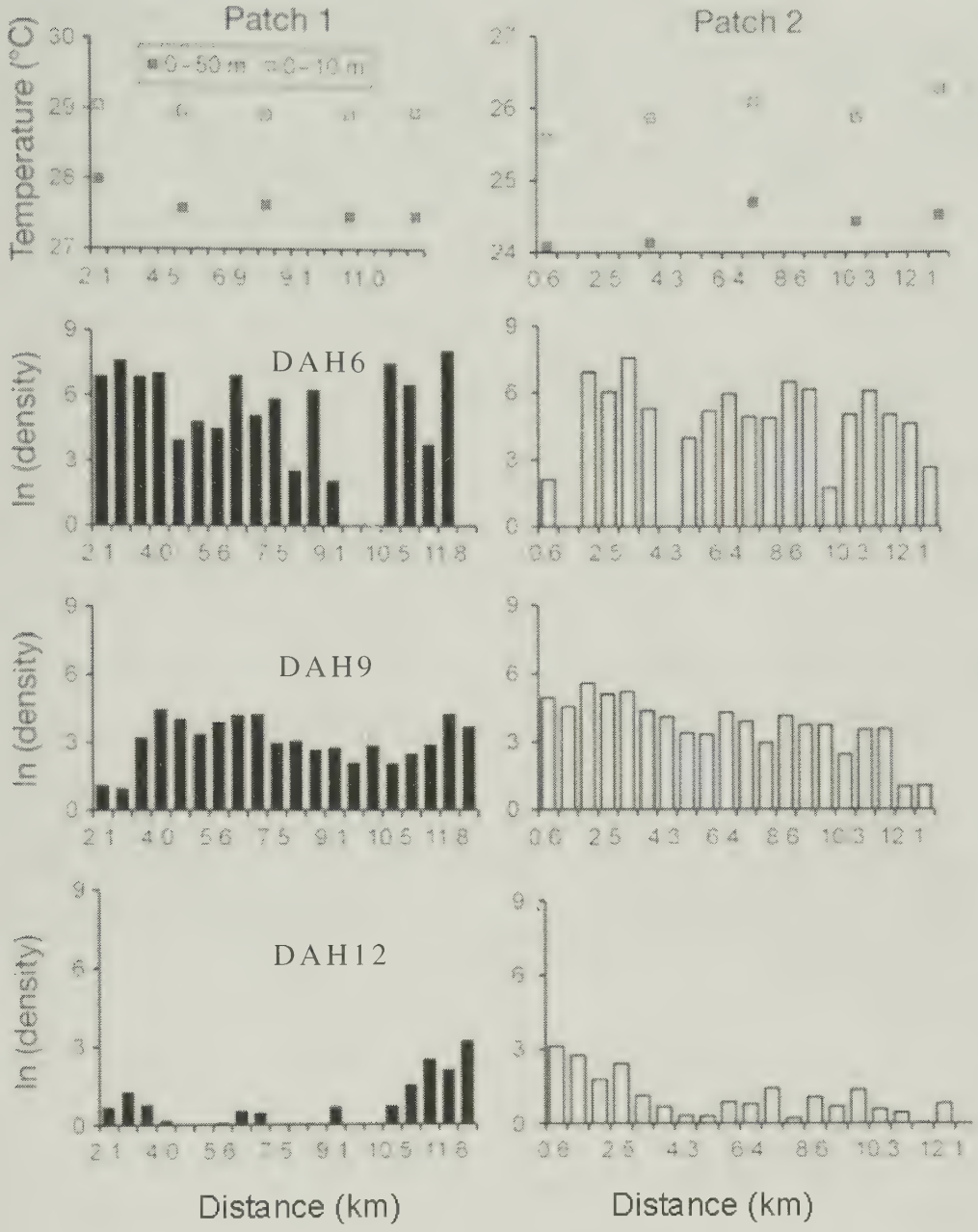


Fig. 3-2. Changes in sea temperature of Patches 1 and 2 (solid square: average from 0 to 50 m depth; shaded square: average from 0 to 10 m depth) at every 5th station. Also shown is the distribution of larval densities (Ln [density + 1] × 1000 m^{-3}) at 6, 9 and 12 d after hatch (DAH) for Patches 1 (solid bars) and 2 (white bars) of each station relative to cumulative distance of the adjacent stations

Appendix 3-1. Theoretical model arranged by day after hatch (DAH) of each patch on each Tracking day for surface tows. Sph: spherical model; Exp: exponential model; Gau: Gaussian model, GOF: goodness of fit. Asterisks show the models which are used for statistical analysis

Patch	Track	DAH 4					DAH 5					DAH 6					DAH 7				
		Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF
1	0						Sph	0.73	306.82	0.97	0.94	Sph	1.18	306.82	0.97	0.90	Gau	1.67	6.45	0.82	0.07*
	1						Gau	0.70	7.97	1.00	0.08	Gau	0.19	5.61	1.00	0.21	Sph	5.09	306.84	0.97	0.18
2	0						Gau	0.99	0.53	1.00	0.07*	Exp	0.79	0.26	1.00	0.10	Exp	0.89	0.23	1.00	0.12*
	1											Sph	16.28	306.85	0.96	0.27	Sph	0.93	6.59	1.00	0.54
3	0																				
	1						Sph	0.22	367.72	0.82	0.92	Gau	1.15	2.02	0.75	0.13*	Sph	1.25	6.61	1.00	0.19*
	2											Sph	0.73	10.42	1.00	0.19	Sph	1.08	6.75	0.79	0.07*
	3																				
4	0	Sph	0.23	4.10	0.94	0.69	Gau	92.83	86.80	1.00	0.12	Sph	0.55	4.20	0.92	0.42	Gau	971.96	291.30	1.00	0.62
	1	Gau	1.44	5.53	1.00	0.33	Gau	1.40	5.24	1.00	0.31	Sph	1.43	13.10	1.00	0.19*	Gau	1.17	3.82	1.00	0.22*
	2	Exp	1.74	7.42	1.00	0.27	Sph	0.85	11.88	1.00	0.23	Sph	0.76	10.41	1.00	0.21	Sph	0.74	10.56	1.00	0.26
	3						Sph	1.14	10.39	1.00	0.12*	Sph	1.08	13.96	1.00	0.14*	Exp	2.23	20.72	1.00	0.16*
	4						Sph	0.33	255.26	0.12	0.62	Sph	1.34	14.07	0.70	0.23*	Sph	1.31	10.53	0.95	0.21*
	5						Gau	3.04	24.76	1.00	0.35	Gau	1.59	12.73	1.00	0.16*	Exp	1.10	5.25	1.00	0.25*
	6											Sph	0.36	6.12	0.00	0.64	Sph	0.12	6.40	0.67	0.85
	7						Sph	1.06	17.54	1.00	0.41	Sph	1.03	16.50	1.00	0.41	Sph	1.15	14.43	1.00	0.44
7	0	Sph	0.04	8.00	0.60	0.97	Sph	0.02	8.00	0.60	0.98	Gau	0.02	8.00	0.60	0.98	Gau	0.03	8.00	0.60	0.97
	1	Sph	0.19	529.91	0.80	0.93	Sph	0.09	6.40	0.65	0.91	Gau	1.44	15.59	0.66	0.36	Gau	289.06	281.11	1.00	0.39
	2						Sph	0.26	12.97	1.00	0.28	Sph	0.52	8.60	1.00	0.42	Exp	1.91	1.98	1.00	0.41
8	0						Sph	2.85	6.40	0.59	0.74	Sph	0.11	6.40	0.59	0.94	Sph	0.25	6.40	0.57	0.85
	1											Gau	36.47	33.77	1.00	0.10	Gau	945.07	122.57	1.00	0.21
	2																				
9	0																				
	1																				
	2																				
	3																				

Patch	Track	DAH 8					DAH 9					DAH 10					DAH 11				
		Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF
1	0	Gau	1.19	3.83	0.80	0.04*	Gau	0.88	2.36	0.93	0.03*	Sph	1.04	3.05	1.00	0.03*	Gau	1.07	1.57	0.87	0.01*
	1	Sph	6.79	306.84	0.97	0.11	Gau	6.18	11.83	1.00	0.05*	Sph	0.92	306.85	0.96	0.43	Sph	0.10	255.64	0.91	0.47
	2																				
2	0	Sph	10.68	306.82	0.98	0.21	Gau	1.12	3.39	0.67	0.04*	Gau	1.08	2.92	0.85	0.05*	Gau	1.30	2.78	0.84	0.07*
	1	Sph	0.44	70.13	0.00	0.65	Sph	0.23	2.41	0.00	0.75	Sph	3.34	306.85	0.96	0.75	Sph	5.01	306.85	0.96	0.65
3	0																				
	1	Sph	1.05	5.83	1.00	0.18*	Exp	1.10	0.72	1.00	0.12*	Exp	1.18	0.29	1.00	0.14*	Sph	2.72	367.98	0.88	0.49
	2	Sph	1.02	5.24	1.00	0.07*	Sph	1.03	6.13	1.00	0.08*	Gau	0.94	2.73	1.00	0.03*	Sph	0.60	7.40	1.00	0.09*
	3																				

Appendix 3-1. (continued)

Patch	Track	DAH 8					DAH 9					DAH 10					DAH 11				
		Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF
4	0	Gau	0.74	286.80	0.00	0.38	Sph	7.88	255.30	0.65	6.66	Gau	3.41	15.30	1.00	0.24	Gau	3.40	15.30	1.00	0.24
	1	Sph	0.14	212.05	0.07	0.82	Exp	64.45	2736.04	0.98	0.97	Sph	1.16	367.95	0.40	0.57	Exp	78.13	913.64	0.93	29.48
	2	Exp	0.87	3.22	0.66	0.18*	Exp	1.60	14.78	0.90	0.38	Sph	1.24	11.59	1.00	0.35	Exp	1.48	0.19	0.59	0.56
	3	Exp	2.48	24.13	1.00	0.19*	Exp	1.12	5.81	1.00	0.25	Exp	0.94	2.19	1.00	0.36	Exp	94.52	2279.79	0.98	1.68
	4	Sph	1.34	13.91	0.72	0.19*	Sph	1.31	13.63	0.76	0.18*	Sph	1.32	13.98	1.00	0.18*	Sph	29.26	916.11	0.98	0.19
	5	Sph	1143.91	28726.54	1.00	0.33	Sph	1.10	16.79	1.00	0.24*	Sph	1.19	17.88	1.00	0.21*	Sph	1.18	14.78	1.00	0.24*
	6	Exp	1.03	1.73	1.00	0.63	Gau	0.89	8.66	0.84	0.39	Gau	0.99	10.68	1.00	0.41	Gau	1.12	13.38	1.00	0.46
	7	Sph	1.14	12.89	1.00	0.41	Sph	0.98	12.93	1.00	0.33	Gau	1.42	17.15	0.00	0.58	Exp	1.80	17.61	1.00	0.35
7	0	Exp	0.09	8.00	0.60	0.92	Exp	3.34	8.00	0.60	0.47										
	1	Exp	10.96	101.82	1.00	0.29	Exp	1.72	8.75	1.00	0.32										
	2	Exp	1.37	1.64	1.00	0.41	Exp	1.43	6.51	1.00	0.41	Exp	1.71	2.44	1.00	0.50	Exp	10.52	2.72	1.00	0.42
8	0	Exp	0.71	0.00	1.00	0.44	Sph	1.46	255.71	0.95	0.74	Sph	11.79	255.71	0.96	0.55	Sph	3.97	255.71	0.95	0.67
	1	Gau	974.02	130.48	1.00	0.18	Gau	1.50	4.98	1.00	0.04	Sph	8.65	368.22	0.96	0.44	Sph	3.93	368.21	0.96	0.72
	2																				
9	0																				
	1	Sph	7.31	368.10	0.94	0.41	Sph	3.65	368.10	0.94	0.58	Sph	2.34	368.10	0.94	0.68	Sph	1.74	306.50	0.85	0.51
	2						Gau	1.39	4.80	0.00	0.29	Exp	61.22	1099.45	0.97	0.82	Exp	6.31	763.17	0.91	0.32
	3						Exp	0.05	10.06	0.00	0.91	Gau	805.42	811.72	1.00	0.74	Gau	2155.07	874.77	1.00	0.36

Patch	Track	DAH 12					DAH 13					DAH 14					DAH 15				
		Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF
1	0	Sph	0.75	3.71	0.90	0.03*	Exp	53.05	1099.54	0.99	0.23	Gau	3301.73	261.76	1.00	5.40					
	1	Gau	831.94	222.88	1.00	0.62	Gau	1846.95	223.96	1.00	0.63										
	2																				
2	0	Sph	1.04	6.03	0.91	0.09*	Gau	0.86	3.91	0.86	0.18*	Exp	48.81	1099.51	0.99	0.59	Exp	39.38	1099.52	0.99	0.43
	1	Sph	8.14	306.85	0.96	0.54	Exp	90.73	1099.61	0.99	0.49	Gau	317.79	80.20	1.00	0.22	Gau	27508.77	348.27	1.00	50.77
3	0																				
	1																				
	2																				
	3																				
4	0	Gau	3.40	15.30	1.00	0.24	Gau	3.40	15.30	1.00	0.24										
	1																				
	2	Gau	1.87	1.08	0.28	1.30	Sph	0.65	4.98	1.00	0.64						Sph	2.28	3.74	0.00	4.84
	3	Sph	0.79	7.19	1.00	0.33	Sph	0.75	8.71	1.00	0.30										
	4	Sph	20.46	763.31	0.98	0.28	Sph	1.75	26.68	0.91	0.12*	Gau	1.11	5.32	0.00	0.28					
	5	Sph	1.21	13.62	1.00	0.24*	Exp	28.19	2279.59	0.97	0.42	Sph	2.46	7.90	0.00	4.34	Exp	1.83	29.57	1.00	0.33
	6	Gau	1.00	11.62	1.00	0.46	Gau	0.99	11.35	1.00	0.46	Gau	0.99	11.35	1.00	0.46					
	7	Exp	5.74	76.64	1.00	0.32	Exp	66.39	1024.30	1.00	0.30	Exp	764.54	12755.03	1.00	0.28	Exp	0.99	8.69	1.00	0.32

Appendix 3-1. (continued)

Patch	Track	DAH 12 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 - nugget/sill)	GOF	DAH 13 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 - nugget/sill)	GOF	DAH 14 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 - nugget/sill)	GOF	DAH 15 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 - nugget/sill)	GOF
5	0	Sph	1.64	255.70	0.94	0.70	Sph	7.78	213.03	0.89	0.46	Exp	2.78	49.38	0.01	0.33	Sph	7.67	213.04	0.89	0.47
	1	Sph	3.69	368.20	0.96	0.76	Sph	2.72	306.82	0.94	0.80	Sph	3.61	306.82	0.94	0.73	Sph	5.00	368.19	0.95	0.72
	2																				
9	0																				
	1	Sph	2.83	7.10	0.00	4.63	Gau	2.07	3.20	0.00	3.19										
	2	Sph	1.56	12.44	0.00	0.63	Exp	21.75	916.28	0.96	0.29	Sph	1.05	3.09	0.00	0.21	Sph	1.53	10.25	0.78	0.24
	3	Sph	0.67	27.31	0.00	0.02	Gau	126.94	456.11	1.00	0.41	Exp	0.02	24.14	0.92	0.43	Sph	0.48	228.82	0.00	0.98

Patch	Track	DAH 16 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	DAH 17 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF	DAH 18 Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence (1 – nugget/sill)	GOF
1	0															
	1															
	2															
2	0	Exp	114.24	1099.55	0.99	6.20	Gau	4288.62	307.02	1.00	5.06	Sph	14.28	146.07	0.95	1.48
	1	Sph	34.44	88.90	0.97	10.01	Exp	665.85	916.35	0.99	101.15	Exp	665.85	916.35	0.99	101.15
3	0															
	1															
	2															
	3															
4	0															
	1															
	2	Sph	2.28	3.74	0.00	4.84	Sph	3.63	177.35	0.31	6.79	Sph	2.28	3.74	0.00	4.84
	3															
	4															
	5															
	6															
	7	Sph	0.86	6.48	1.00	0.30										
7	0															
	1															
	2															
8	0	Exp	330.38	0.02	1.00	11.56										
	1	Sph	6.32	368.20	0.96	0.65	Sph	5.59	368.21	0.96	0.67	Sph	11.32	368.21	0.96	0.54
	2															
9	0															
	1	2	Gau	1.03	10.11	0.00	0.46	Gau	1.03	10.11	0.00	0.46				
	3	Gau	3.89	10.11	0.00	9.68										

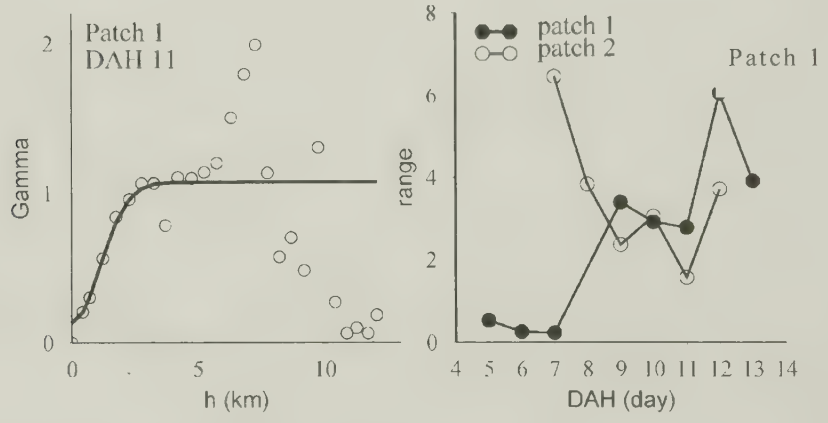
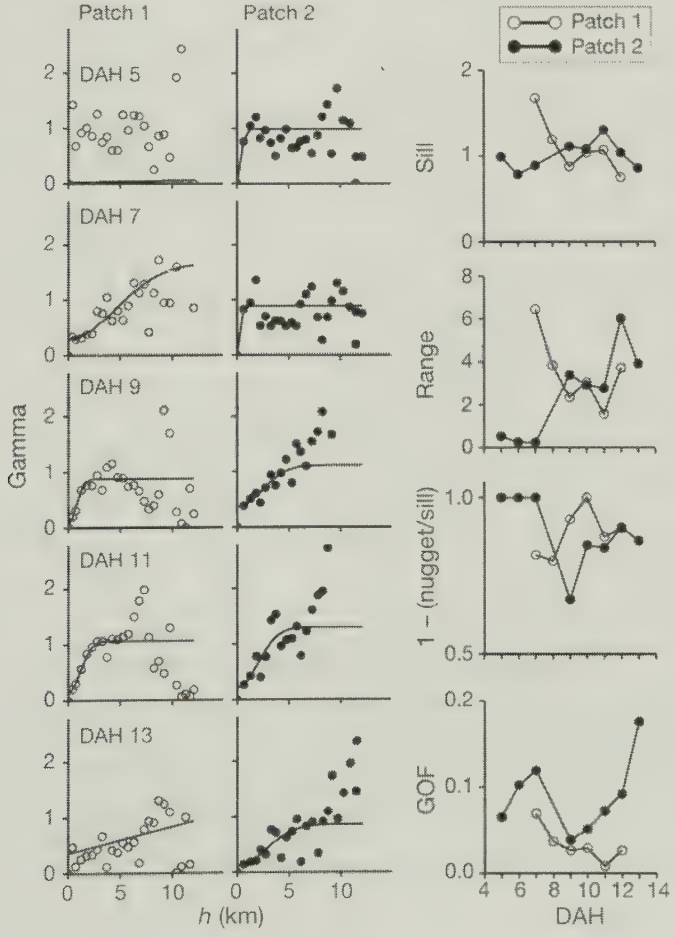


Fig. 3-3. Relative (to sample variance) experimental variogram (open circle) and theoretical variograms (solid line) of DAH (day after hatch) 11 of Patch 1 on tracking day 0 (left panel). h: distance between stations (km). Righthand panel shows age-specific values of range of Patches 1 (solid circle) and 2 (open circle). Lag = 0.5 ± 0.25 km. Each fit used experiment variograms < 6 km (approximately half of maximum h).

Table 3-1. Effects of explanatory variables (day after hatch [DAH], Patch, Tracking day and towing method [tow]) on the range of spatial structure of the larval patches. Explanatory variables are treated as categorical variables

patch	indicator	Source	DF	Adj SS	Adj MS	F	P
1 and 2	range	DAH	8	32.1	4.0	0.28	0.945
		patch	1	5.6	5.6	0.40	0.557
		Error	5	71.2	14.2		
3	range	DAH	5	36.8	7.4	2.01	0.300
		tracking day	1	6.9	6.9	1.88	0.264
		Error	3	11.0	3.7		
4	range	DAH	8	315.8	39.5	2.26	0.169
		tracking day	4	303.6	75.9	4.34	0.055
		Error	6	105.0	17.5		
5 and 6	range	DAH	6	10.7	1.8	0.36	0.852
		tow	1	4.4	4.4	0.89	0.518
		Error	1	4.9	4.9		

Appendix 3-2. Relative (to sample variance) experimental (s: Patch 1; d: Patch 2) and modeled variograms (-) for each day after hatch (DAH) of Patches 1 (left panels) and 2 (middle panels) on Tracking day 0. *h*: distance between stations (km). Righthand panels show age-specific values of sill, range, spatial dependence (1 - [nugget/sill]) and goodness-of-fit (GOF) of Patches 1 (s) and 2 (d). Lag = 0.5 ± 0.25 km. Each fit used experiment variograms <6 km (approximately half maximum *h*). Several points of experimental variograms of ages 9 and 11 in Patch 2 were larger than the *x*-axis range



型，2コホートが指数型，残る2コホートがガウス型でモデル化された。Patch 4では19コホートについてモデルバリオグラムが推定された。13コホートが球型，1コホートが指数型，残る2コホートがガウス型でモデル化された。全てのパッチを通じて，選択された理論バリオグラムのモデルは，指数型がやや少ないが，どれかのモデルに偏って選択されることはなかった。レンジと DAH の間には有意な関係は得られなかった (Patch 3; ANOVA, $F = 2.01$, $P = 0.300$。Patch 4; ANOVA, $F = 2.26$, $P = 0.169$, Table 3-1)。また，レンジと追跡日の間にも有意な関係は得られなかった (Patch 3; ANOVA, $F = 1.88$, $P = 0.264$。Patch 4; ANOVA, $F = 4.34$, $P = 0.055$, Table 3-1)。レンジは追跡中に有意に変化しないといえる。

Patch 3について，ある1日の観測点を，追跡ブイを原点において，それぞれの観測時点でのブイとの方位と距離を用いて一平面に配置し（つまり，同時に観測したと仮定），追跡日ごと，コホートごとに通常クリギングで等密度線を描いた（Fig 3-4)。およそ20 km 四方において，モザイク状に仔魚が分布しており，楕円形などの特定の分布形を示さない。Patch 3の追跡1日目の DAH 6は，追跡2日目には DAH 7となる。このコホートの追跡日間の水平分布よりも，同追跡日の異なるコホート，すなわち，追跡1日目の DAH 6と DAH 8，追跡日2日目の DAH 7と DAH9の水平分布のほうが類似している。観測日当日の物理要因や捕食の影響を強く受けて，詳細な仔魚の水平分布が決定されていると思われる。このようなモザイク状の分布に，バリ

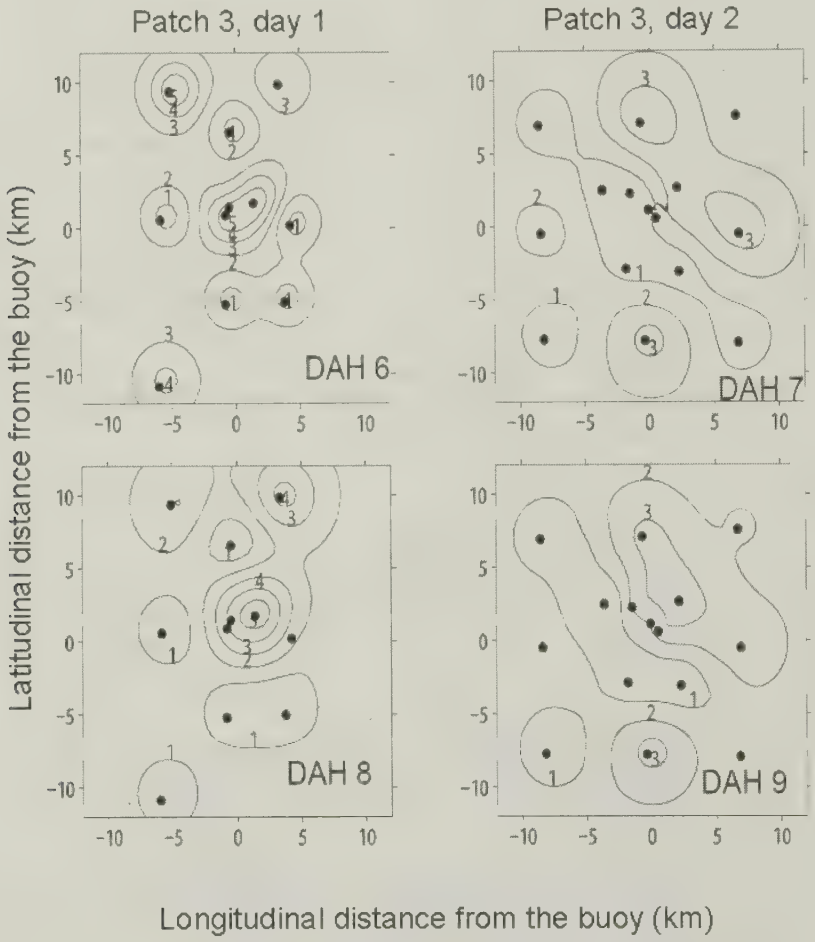


Fig. 3-4. Larval density (Ln [density + 1] × 1000 m^{-3}) distributions of each day after hatch (DAH) of Patch 3 on tracking days 1 (left panels) and 2 (right panels) as derived by ordinary kriging. The origin is the position of the reference buoy, and the *x*- and y-axes are longitudinal and latitudinal distance (km) from the buoy, respectively

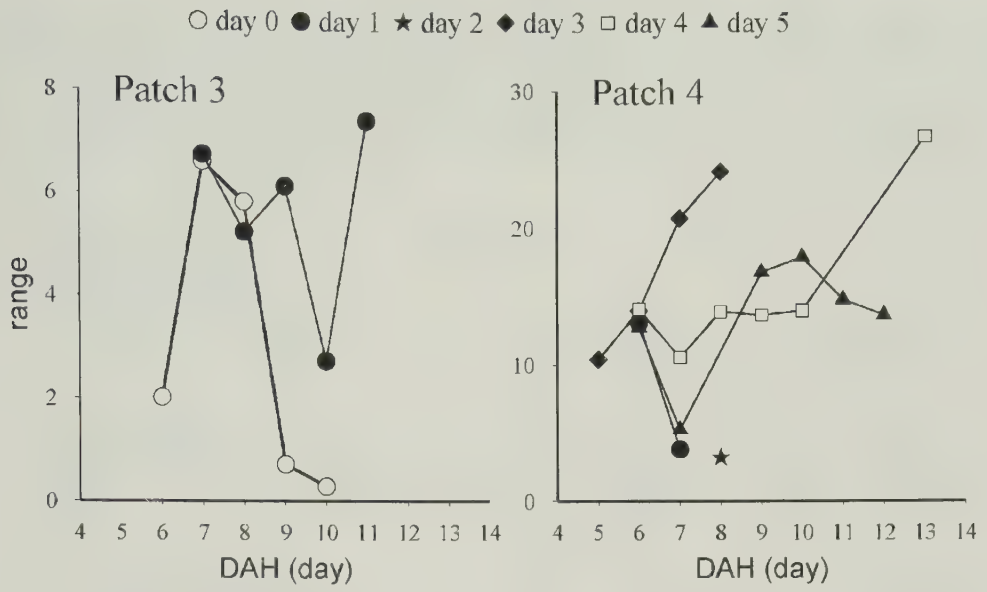


Fig. 3-5. Age-specific values of range of Patches 3 (left panel) and 4 (right panel) for each tracking day. Lag = 2.0 ± 1.0 km. Open circle (tracking day 0), solid circle (day 1), star (day 2), rhombus (day 3), open suare (day 4), triangle (day 5). The values of all ages on tracking days 0, 6 and 7 for Patch 4 were omitted because these model variograms did not fit well

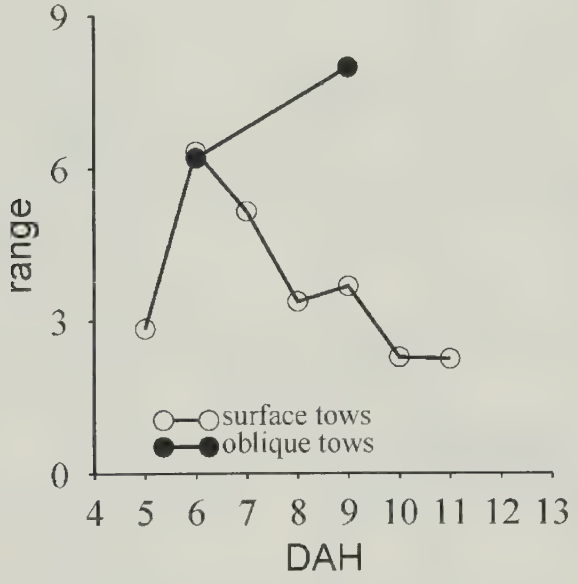
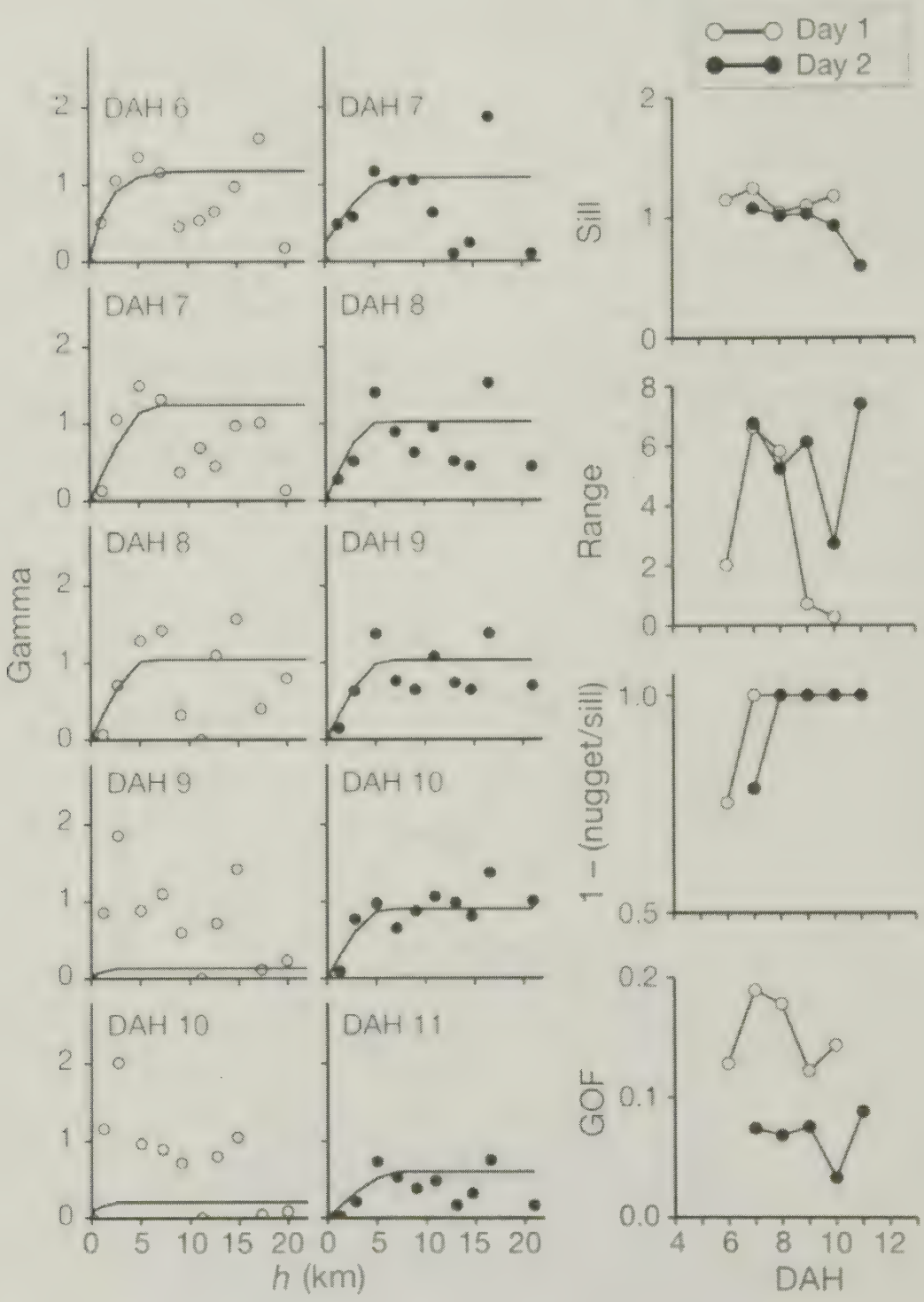
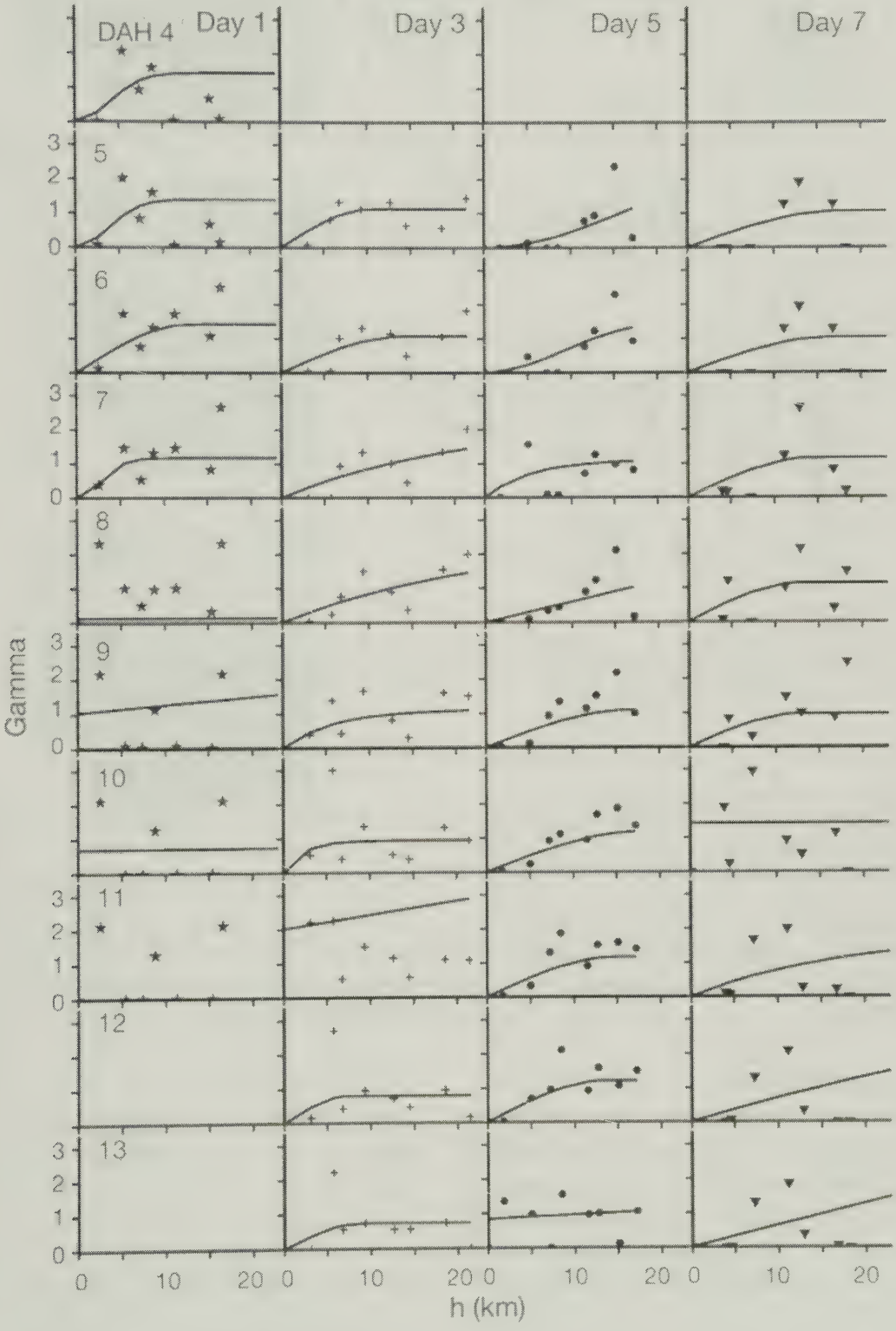


Fig. 3-7. Age-specific values of range of large scale larval observation including Patches 5 and 6. Lag = 8.0 ± 4.0 km for surface tows (open circle), 15.0 ± 7.5 km for oblique tows (solid circle). Each fit used variograms < 50 km (approximately half of maximum h (distance between a pair of two stations)) for surface tows and all experiment variograms for oblique tows

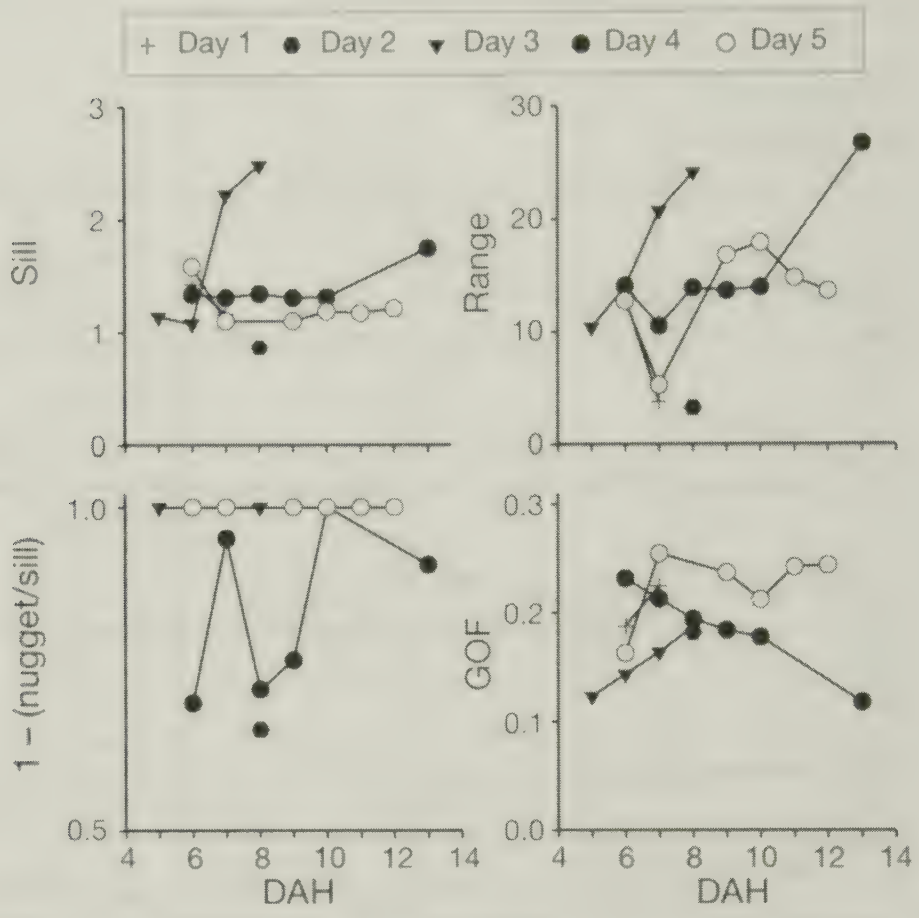
Appendix 3-3. Relative (to sample variance) experimental (s: Tracking day 1; d: Tracking day 2) and modeled variograms (-) for each day after hatch (DAH) of Patch 3 on Tracking days 1 (left panels) and 2 (middle panels). Right-hand panels show age-specific values of sill, range, spatial dependence (1 - [nugget/sill]) and goodness-of-fit (GOF) of Patch 3. h: distance between stations (km). Lag = 2.0 ± 1.0 km. Each fit used all experimental variograms (maximum distance is approximately 22 km)



Appendix 3-4. Surface tows. Relative (to sample variance) experimental variograms from Tracking day 0 to 7 (Q: Tracking day 1; +: Tracking day 3; d: Tracking day 5; z: Tracking day 7) and modeled variograms (-) for each day after hatch (DAH) of Patch 4. h: distance between stations (km). Lag = 2.0 ± 1.0 km. Each fit used all experimental variograms (maximum distance distributed from 12 to 25 km)



Appendix 3-5. Surface tows. Age-specific values (day after hatch, DAH) of sill, range, spatial dependence (1 – [nugget/sill]) and goodness-of-fit (GOF) of Patch 4 from Tracking day 1 to 5. The values of all ages on Tracking days 0, 6 and 7 were omitted because these model variograms did not fit well



オグラムを用いると，コホートの水平的な大きさ（レンジ）は5.83 kmと推定された（Fig 3-5, Appendix 3-1）。なお，Patch 3と4のDAHごとのフィットの様子，各パラメータ，GOFはAppendix 3-3, 3-4および3-5に示した。また，斜め曳きでは，観測点数が少ないこともあり，良いフィットが得られなかったので，詳しい解析は行わなかった。

Large-scaleでのパッチの分布

2006年6月により大きな範囲でのパッチの分布を知る目的で150 km四方におよそ40 kmおきに30の観測点を設けた。観測域の北西部分に高気圧性の中規模性渦（時計回り）が，南東部分に低気圧性の渦（反時計回り）が分布した。これらの渦は，全体的に西へ移動していた。合計7つの観測点からクロマグロ仔魚が出現し，特に仔魚密度の高い観測点が2つの渦の縁辺に分布した。これをPatch 5と6とした（Fig 3-6　A-C）。Patch 5は観測点146で発見され，6から8　DAHの仔魚で構成され，Patch 6は観測点152でみつかり，5から7 DAHの仔魚が分布した。2つのパッチが発見された観測点では周囲と比較して，流速は速く，塩分は低く，水温は同等であった（Fig 3-6　D-F）。同じような流速，塩分および水温である観測点であっても仔魚は出現せず，これらの3つの環境要因とパッチの分布の関係は明らかではない。

斜め曳きの経験バリオグラムの理論バリオグラムへのモデル化はうまくいかないことが多かった。これは，斜め曳きの観測点数が，表層曳網と比べて，時間的な制約から1日あたり1点程度少ないことが多いためである。いっぽう，表層曳網のサンプルからは，理論バリオグラムのパラメータが8つのコホートで得られた。6コホートが指数型，残る2コホートがガウス型でモデル化された（Appendix 3-6）。レンジは2.2から6.3 kmに分布し（Fig 3-7），レンジとDAHの間には有意な関係は得られなかった（ANOVA, $F = 0.36$, $P = 0.852$, Table 3-1）。観測期間を通して得られた採集

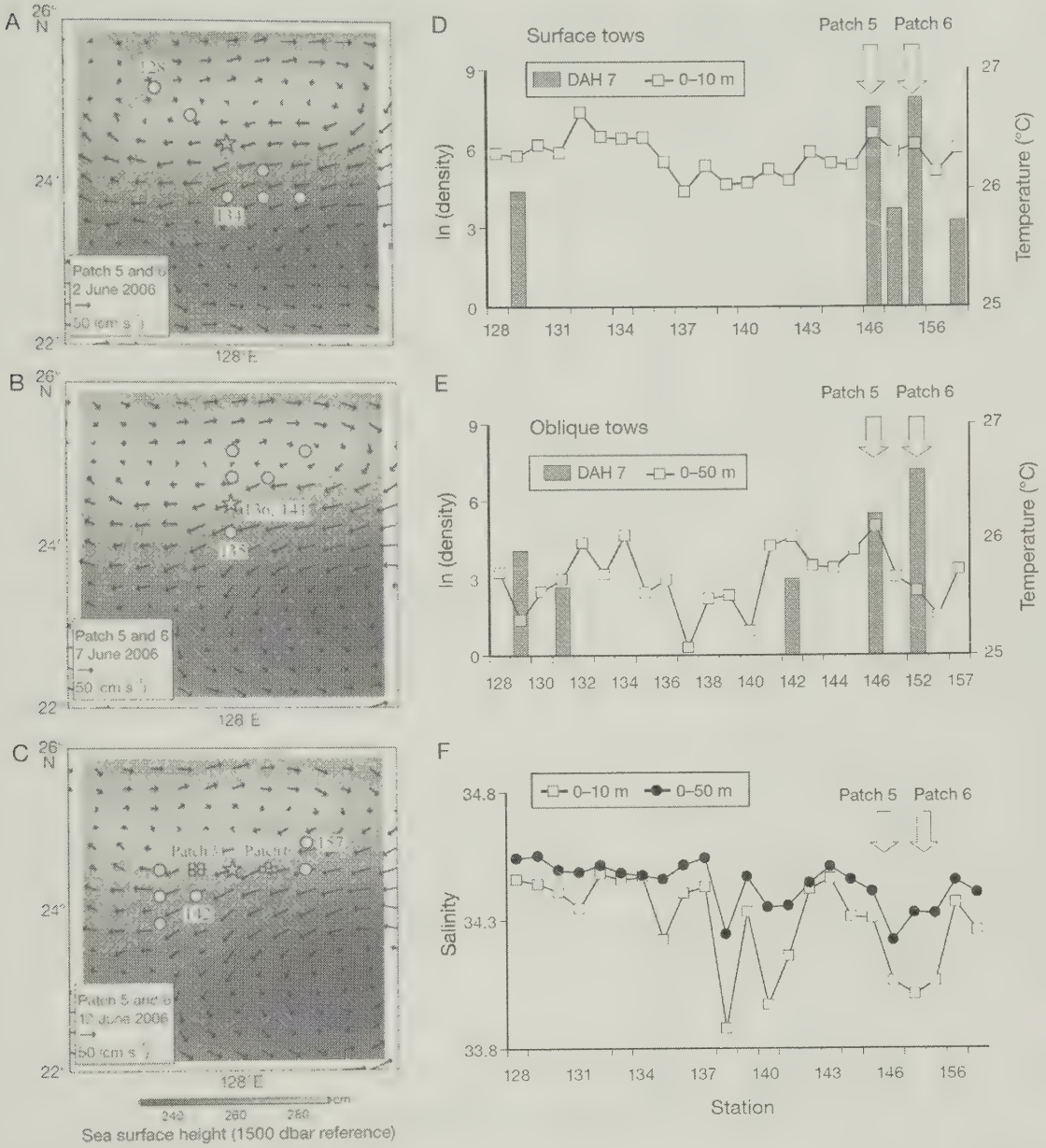


Fig. 3-6. Large-scale larval distribution. (A–C) Sea surface height, sea surface currents and stations (open circle, star; station at the center of the schematic observation) in June 2006. Patches 5 and 6 were detected at Stns 146 and 151, respectively. (D, E) Larval density (Ln [density + 1] × 1000 m^{-3}) and temperature for (D) surface tows, (E) oblique tows, (F) mean salinity

Appendix 3-6. Summary of basic statistics and theoretical model arranged by day after hatch (DAH) and towing methods at 30 (surface tows) and 23 (oblique tows) stations in June 2006 including Patches 5 and 6. Zero: percentage of stations where no larvae were collected; Exp: exponential model; Gau: Gaussian model; spatial dependence: 1 – nugget/sill; GOF: goodness of fit; *models used for statistical analysis

DAH	Larval density (ln+ 1) Mean	Max	CV	Zero (%)	Model	Sill	Range (km)	Spatial dependence	GOF
Surface tow									
4	7.1	9.9	3.82	93	Exp	0.50	2735.6	0.95	2.00
5	6.3	9.4	4.08	80	Exp	0.89	2.8	1.00	0.66*
6	5.9	8.5	2.77	67	Exp	1.10	6.3	1.00	0.60*
7	5.6	7.9	2.40	67	Exp	1.11	5.2	1.00	0.43*
8	4.1	6.1	2.27	67	Exp	1.07	3.4	1.00	0.47*
9	1.6	3.9	2.60	73	Exp	1.05	3.7	1.00	1.08
10	0.2	1.3	2.84	87	Exp	0.80	2.3	1.00	0.91*
11	0.1	0.7	2.74	83	Gau	0.43	2.2	1.00	0.25*
12	0.0	0.4	4.88	93					
13	0.0	0.1	5.48	97					
14	0.0	0.0	5.48	97					
15				100					
16	0.0	0.6	5.48	97					
17	0.0	0.6	5.48	97					
18	0.0	0.3	5.48	97					
Oblique tow									
4				100					
5	5.9	8.5	3.27	78	Exp	0.95	44.6	1.00	0.34
6	5.3	7.6	2.81	78	Exp	0.85	6.2	0.97	0.25*
7	4.3	7.2	3.86	78	Exp	0.07	2.1	0.83	0.95
8	2.4	5.2	3.60	78	Exp	0.13	2.1	0.83	0.75
9	0.5	2.3	2.78	78	Gau	0.66	8.0	0.60	0.20*
10	0.1	0.8	3.34	91	Exp	0.92	90.8	1.00	0.13
11	0.0	0.3	3.23	87					
12	0.0	0.5	4.80	96	Exp	1.06	197.9	1.00	0.31
13	0.1	0.4	2.39	83					
14	0.0	0.3	2.40	83					
15	0.0	0.3	2.99	83					
16	0.0	0.1	2.80	87					
17	0.0	0.1	4.80	96					
18	0.0	0.1	4.80	96					

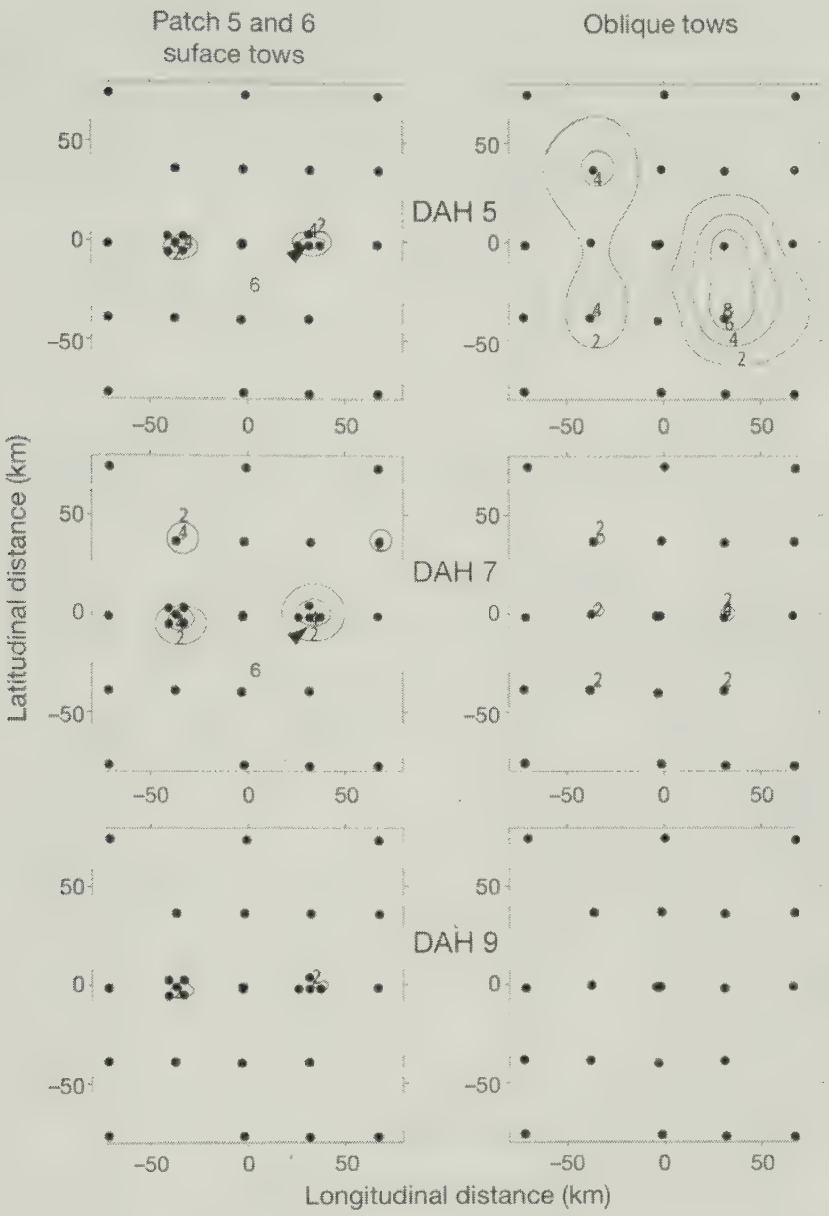
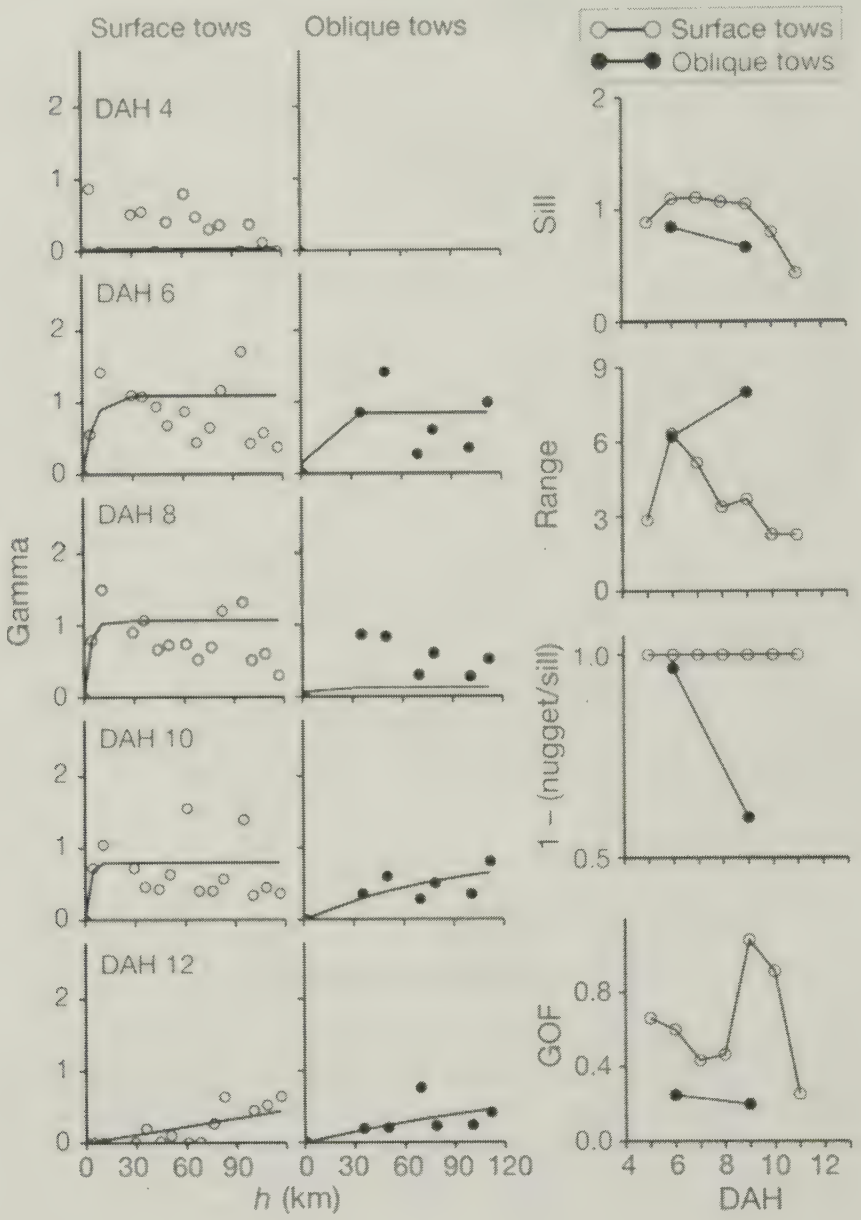


Fig. 3–8. Larval density (Ln [density + 1] × 1000 m^{-3}) distributions of each day after hatch (DAH) on observation of 30 (surface tows, left panels) and 23 (oblique tows, right panels) stations in June 2006, including Patches 5 and 6, as derived by ordinary kriging. The origin is the position of Stn 130, which is located in the center of the survey area in June 2006, and the *x*- and *y*-axes show longitudinal and latitudinal distance from the center position, respectively

Appendix 3-7. Relative (to sample variance) experimental variograms of observation of 30 (open circle: surface tows) and 23 (solid circle: oblique tows) stations in June 2006, including Patches 5 and 6. h: distance between stations (km). Lag = 8.0 ± 4.0 km for surface tows. 15.0 ± 7.5 km for oblique tows. Each fit used variograms <50 km (approximately half of maximum h) for surface tows and all experiment variograms for oblique tows



結果から，通常クリギングで等密度線を描いた（Fig 3-8）。表層曳網での結果からは，Patch 5と 6 は地理的に明瞭に分けられ，Patch 5と 6 の観測点間距離は65 km であった。なお，大規模スケールでの空間分布について，表層曳網と斜め曳き別に DAH ごとのフィットの様子，各パラメータ，GOF は Appendix 3-7に示した。

以上から全てのスケールをあわせると，83のコホートが採集され，のべ233日の追跡が行われたので，233のコホートについてレンジが得られるはずである。しかしながら，仔魚密度の低いコホート，観測点の少ない場合などはレンジが得られなかったのは上述したとおりで，最終的に仔魚密度の高いコホートを中心に50のコホートのレンジが得られた（Fig 3-9）。Patch 4のモードが15 km（10 km 以上15 km 未満）のカテゴリにモードがあったが，それ以外のパッチのモードは5 km であった。これらの各スケールで推定されたレンジの平均は7.5 km であった。従って，10 km 四方から30 km 四方（平均15 km 四方）がコホートの典型的な大きさといえる。

鉛直分布と日周鉛直移動

MOCNESSS による層別採集は2005年 6 月 2 日の正午12時から2005年 6 月 4 日の午前 8 時まで，追跡ブイの近傍の10観測点で 4 時間おきに採集が行われた（Fig 3-10）。なお，表層は2-m リングネットの結果を用いた。採集時刻（ 4 時間おき）で採集結果をまとめると，クロマグロ仔魚は20 m より浅い層でのみ採集された。このときの観測の最初（M13）と最後（M22）の観測点の sigma-t の鉛直プロファイルからは，混合層の底の水深はおよそ40 m であった。クロマグロ仔魚の食物生物（*Corycaeus* 属，*Clausocaranus* 属などの小型のコペポーダ，コペポーダのノープリウス幼生）は表層から100 m 層まで，全ての層で採集されたが，それらとの分布の多寡と仔魚の鉛直分布に明瞭な関係はなかった。

考察

水平分布

Fine-scale（数百 m～ 1 km）から mid-scale（およそ20 km 四方）で観測したところ，パッチは複数のコホートで構成されていた。中規模スケールでの水平分布は，そのスケールでの海況の影響を受けて，仔魚分布が変動していると考えられ，異なるコホート間の仔魚の水平分布の様相は類似した。これらのことから，およそ20 km 四方のスケールの各所で数日にわたって起きた産卵イベントを起源とする複数のコホートが海況の影響で混合した結果がパッチとして観察されているものと考えられる。同じようにパッチが複数のコホートで構成されている例が，ミナミマグロ仔魚についても報告されている（Davis *et al.* 1990a）。

コホートの水平規模が20 km 四方のスケールになる

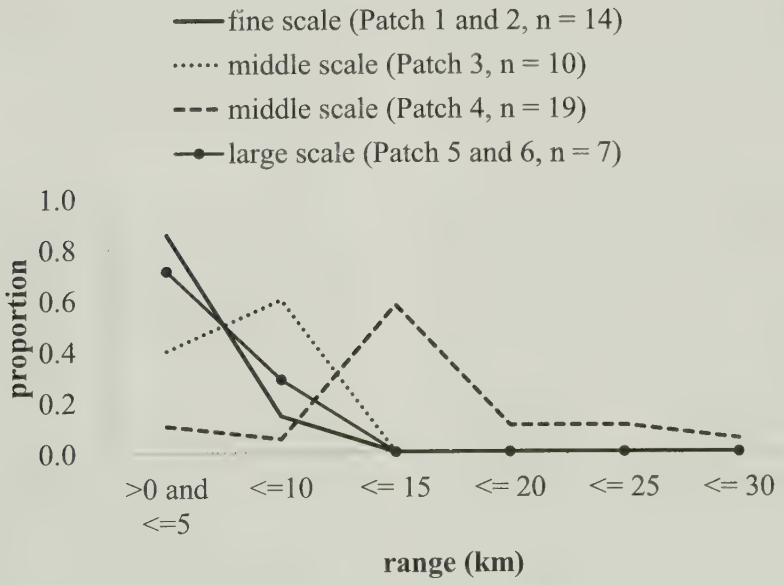


Fig. 3-9. Distribution of estimated range for each cohort. N: number of cohort

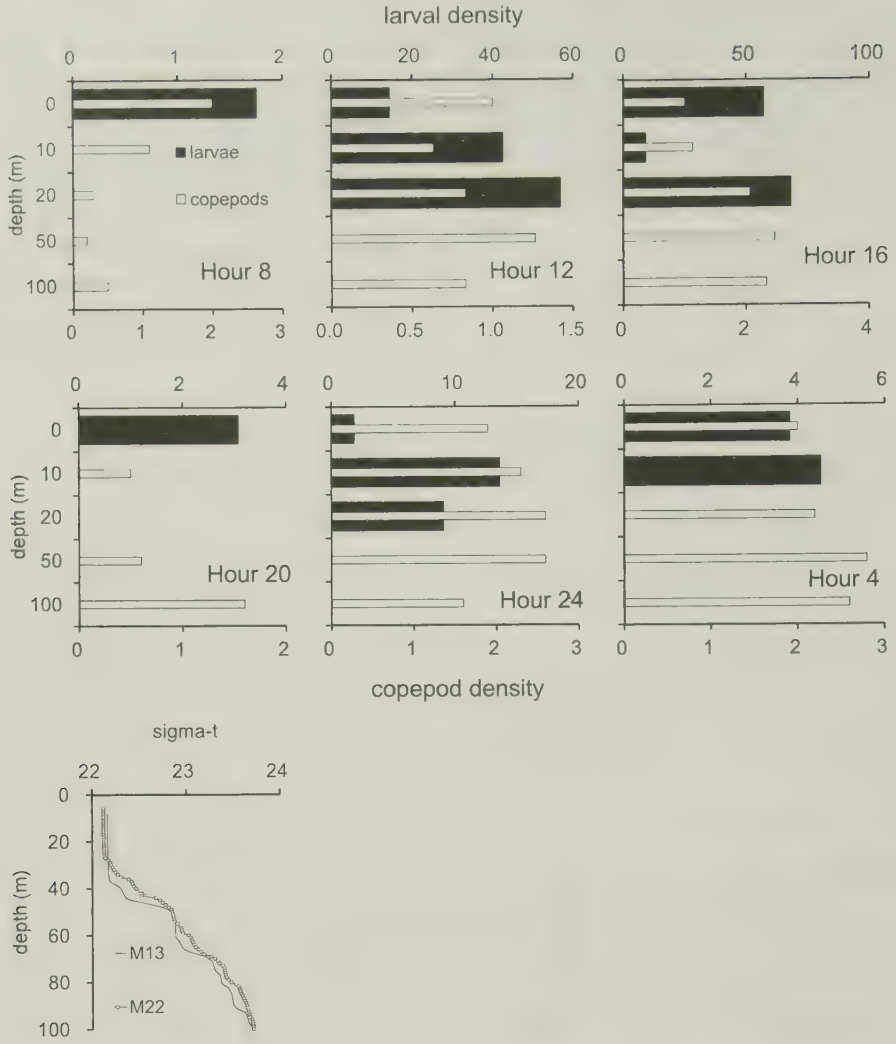


Fig. 3-10. Vertical larval distribution (black bars; ind. × 1000 m^{-3}) and copepod density (white bars; ind. L^{-1}) of each layer (0, 10, 20, 50 and 100 m depth) for every 4 h of Patch 3 in June 2005. Larval densities are not corrected for net avoidance, net intrusion or sampling time. Vertical profiles of sigma-t of the first (Stn M13) and last (Stn M22) station of the MOCNESS observations

ための何らかの物理的な要因があると思われ，あるいはまた，クロマグロの産卵が20 km 四方の規模で行われることを示しているのかもしれない。いっぽう，Patch 3で観察されたようにある１日の仔魚の水平分布は当日の物理的要因，生物学的要因（捕食）の影響を受けて決定されており，１日ごとに大きく変容するようである．このような状況で，レンジの値が安定的であったとは，同じ物理作用を受けて，同じように水平分布が変化するものの，パッチ全体としてはまとまりを失わないことを示すものであろう

Patch 4の追跡６日目には，それまで，追跡していた体長６～８mm とは異なる，体長４～５mm の仔魚が若干だが新たに出現していることから，長期に追跡した場合，mid scale より離れた位置で産卵されたコホート同士が混合する可能性は否定できない。このような場合は，経験した環境要因が違う可能性が大きくなるので，仔魚の成長と環境要因の関連を論ずるには適当でなくなる。離れた位置での産卵されたコホートの例は，大規模スケールでの調査でみられた２つのパッチ（Patch 5と６）にみられる。この２つのパッチのレンジは2.2から6.3 km であり，観測点間隔（65 km）より十分小さく，これらのパッチを構成する仔魚の DAH は類似していた（DAH 4 から９）ので，この二つのパッチはほぼ同時期に起きた別々の産卵イベントを起源とする仔魚パッチであると考えられる。しかしながら，追跡した７つのパッチにおいては，明瞭に体長組成の

モードを追跡することが出来るので，混合の可能性に留意する必要はあるものの，１週間程度では混合の影響は小さいと考えられ，少なくともPatch 4の追跡６日目にしか，そのような混合の証拠はみつからなかった。以上のようなことから，パッチ追跡で得られた仔魚の成長，環境要因の変化は，両者の関係を論ずるには適当であるといえる。

また，Patch 5と６が発見された観測点の水温と塩分は互いに類似していたのであるが，似たような環境要因であってもほかの観測点で仔魚がみられたわけではなかった。また，この二つのパッチは比較的流れの速い場所に分布しており，Patches 1，３，４，７および９も同様に流れの速い場所に分布したが，Patch 2と８はむしろ流れの弱い場所に分布した。それ故に，水温，塩分および流速だけでは仔魚分布を説明するのは難しいであろう。

いくつかのパッチ（Patch 1，２，３，５および６）で，理論バリオグラムが経験バリオグラムによくフィットしたので，クリギングを用いた手法は，仔魚の空間構造を把握するのに適当な手法であるといえる。場合によっては，観測点数が少ないため，この手法で適当な空間構造に関する情報が得られないパッチもあった（Patch 4，７，８および９）。少なくとも１日あたり７点以上の観測点を設けないと良いフィットが得られない可能性が高くなる。

受精後，コホートの水平的な空間構造は生物的，物理的要因，例えば捕食者の密度，同じ食物を競合する競争者の密度，食物生物の密度，水温，拡散速度などによって，影響を受ける。観測点間におけるこれらの要因のばらつきが観測点間の仔魚密度のばらつきをもたらし，レンジの縮小につながるだろう。本研究では環境要因のばらつきが小さく（第４章で述べる），環境要因と仔魚の空間構造との間に明瞭な関係は得られなかったが，その環境要因の変動の小ささが，追跡中の空間構造の安定性をもたらしたといえる。さらにいえば，Patch 4の追跡６日目に，環境要因が大きく変化した。このとき観測点数は多かったが，理論バリオグラムはうまくフィットしなかった。大きな環境要因の変化は空間構造に影響を及ぼすと考えられる。

レンジ以外の理論バリオグラムのパラメータの一つである空間従属性（spatial dependence; 1 − nugget/sill）は多くの場合，1.0に近い値を示した。これは，ナゲットが０に近い値を示したためである。ナゲットは今回用いた2-mリングネットの曳網距離（５分曳網で250 m）よりも細かいスケールでの分布のばらつきを示す。ナゲットが多くの場合で０に近い値であることは，仔魚が数mから10 mのスケールでは集群していないことを示すと思われる。

シルやレンジは経験バリオグラムを計算する際の観測点間の単位距離（lag）の変化に敏感である。この研究では，それぞれのスケールの観測で観測点間距離が異なっていることを反映して，lagが異なっている（小規模でのラグ 0.5 km，中規模2.0 km，大規簿８と15 km）。追跡ブイに対する観測点の位置は強く結果に影響するが，この位置関係はサンプリング日ごとに首尾一貫していない。それ故に，一般的には，異なる観測スケールで得られたバリオグラムの結果を簡単に比較はできない，たとえそうであっても，推定されたレンジは，中規模スケールのPatch 4でレンジのモードが15 kmにあった以外は，ラグの大きさと関わりなく，５kmであった。厳密に言えば，レンジは仔魚密度の相関が高い範囲を示しているので，必ずしも仔魚の実際の分布範囲を示すものではないが，このレンジの範囲はミナミマグロ仔魚の分布範囲（５kmから15km，Davis *et al*. 1990b）と類似した値である。従って，もし環境要因が安定的であるならば，コホートの空間構造は安定的であり，典型的には水平規模で10 kmから30 km四方の範囲に分布し，コホートを構成する仔魚はともに輸送されていると考えられる。コホートの水平規模（平均15 km四方）からみると，パッチ発見のためのサンプリング間隔を８から９kmとしたのは適当であったと考えられる。

鉛直分布

クロマグロ仔魚は混合層にのみ分布した。強い密度躍層が混合層より下層への分布を妨げた可能性はある。しかしながら，この分布特性は種特異的なものであろう。多くの研究がクロマグロを含むマグロ類仔魚が混合層，それもより表層に近い水深に分布する傾向があることを報告している（Matsumoto 1958, Strasburg 1960, 上柳1969, Davis *et al*. 1990b, Boehlert & Mundy 1994）。日周鉛直移動性については明瞭には認められなかった。ほかのマグロ類仔魚について，日周鉛直移動性の有無についての統一した見解は得られていない。ミナミマグロの産卵海域において，ミナミマグロ仔魚には昼間に表層に移動する日周鉛直移動性があることが示されている（Davis *et al*. 1990b）が，ビンナガについては移動性があるとする報告（Davis *et al*. 1990b）とないとする報告がある（上柳 1969）。混合層の，それも表層に近い浅い層にのみ分布し，顕著な日周鉛直移動も示さないクロマグロの性質が，数日から１週間のパッチの追跡を可能にした理由の一つである。鉛直的に狭い範囲に分布するので，仔魚は同じようなシアー流（水平の流れが異なる層の間で発生

する上下方向の流れ）を受け，拡散が抑えられるだろう。また，流れの環境の一様性が水平的にも安定的な分布を保つことにもなる。

黒潮と中規模性渦の役割

複数のコホートで構成されたパッチは中規模性渦に従って輸送されていた。中規模性渦自体は7～10 cm s^{-1}（1日およそ6 kmから8.6 km）の速度で西へ進み，渦のいくつかは黒潮に合流することが知られている（Ebuchi & Hanawa 2001）。渦にとらえられたパッチはより黒潮にとらえられやすくなるだろう　クロマグロは受精後およそ3ヶ月後には尾叉長30 cmに育って日本近海の曳き縄漁業に加入するが，産卵域である南西諸島と，その1000 km北方にある加入域とは黒潮によって接続されている（Fig 1-1）。仔魚は南西諸島周辺に広く分布するとともに，黒潮流域にも分布している（Fig 1-3）。いっぽう，これまで稚魚は主として黒潮流域で採集されている（例えば，1997年6月に174個体の稚魚（mean ± SD = 32.2 ± 3.4 mm SL）が黒潮流域で採集された（辻ら 1999）。これは，間接的であるが，稚魚が，黒潮を日本沿岸への移動の経路としている証拠である。仔魚はもちろん，小さな稚魚も遊泳力は弱いので，西進する中規模性渦と黒潮を利用して，日本沿岸を含む温帯域へ移動しているものと思われる。

適切な観測方法

以上の結果，考察から，仔魚パッチをとらえるとしたら，7.5 kmおきにサンプリングするのが適当である。パッチ全体を観測する必要があれば，30 km四方程度を観測範囲とするべきである。また，パッチ全体が輸送される可能性が高いので，流況に応じた分布のゆがみを考慮してサンプリングするべきである。また，本研究で用いた空間統計学的手法で仔魚密度の等密度線を描画し，観測海域の仔魚密度を推定するには，一日の観測点は少なくとも7点，もしくはそれ以上が望ましく，ラグを同一とするために観測点間距離は一定とするのが望ましい。

第4章　初期成長と生残

海産魚類の初期生活史において，成長の良否が加入変動に深く関わっていると考えられている（Houde 1987）。クロマグロは全生活史を通じて飼育が可能であるため，クロマグロ仔魚期における成長は比較的知見が多いものの，食物環境や水温など環境要因と成長との関連については明らかではない。また，クロマグロ仔魚期において，常に体サイズが大きいこと，成長速度が高いことが，常に高い生残率につながるかも明らかではない。

本章では第一に仔魚採集の際のネット逃避，逸出の有無と程度を推定し，採集されたクロマグロ仔魚の採集密度の補正を検討する。第二にクロマグロ仔魚期において，体サイズが大きいこと，成長速度が高いことが，高い生残率につながるかを明らかにする。第三に水温，成層強度指数および食物密度と仔魚の成長の回帰分析を行った。

試料と方法

ネット逃避とネット逸出の補正

真の仔魚数は次の式で推定される（Somerton & Kobayashi 1989）

$$N = Nobs/Pc \quad (4\text{-}1)$$

ここで，Nは1回の曳網で得られる真の仔魚密度，Nobsはプランクトンネットで採集された仔魚密度，Pcは採集確率。Pcは次の式で表される。

$$Pc = Pe^{*}Pr \quad (4\text{-}2)$$

ここで，Peはネット入網確率（net entry probability），Prはネット保持確率（net retention probability）。前者は1－ネット逃避確率（net avoidance probability），後者は1－ネット逸出確率（net extrusion probability）と同値である。

これらの値を求めるには，入網実験（entry experiment）を行う。この実験では，全ての体長について夜間採集時のネット逃避がないものと仮定（つまりPen = 1.0）する。これを式4-1と4-2に代入して昼夜の仔魚の採集比（Nd/Nn）を求める。

$$N = Nn/(Pen^{*}Prn) = Nn/(1.0^{*}Prn) \quad (4\text{-}3)$$

$$N = Nd/(Ped^{*}Prd) \quad (4\text{-}4)$$

$$Nd/Nn = Ped^{*}Prd/Prn \quad (4\text{-}5)$$

ここで，Nnは夜間の採集仔魚密度，Penは夜間のネット入網確率，Prnは夜間のネット保持確率，Ndは昼間の採集仔魚密度，Pedは昼間のネット入網確率，Prdは昼間のネット保持確率である。なお，2番目の添え字はnが夜間（night），dが昼間（daytime）を表している。

これらの確率は体長の関数と考えられるので，次のロジスティック曲線に当てはめた。

$$Ped = 1 - 1/(1 + a \exp(-bSL)) \quad (4\text{-}6)$$

$$Prd = 1/(1 + c \exp(-dSL)) \quad (4\text{-}7)$$

$$Prn = 1/(1 + e \exp(-fSL)) \quad (4\text{-}8)$$

ここで，aからfは推定するパラメータである。

式（4-5）に式（4-6）から（4-8）を代入した式で，

実測した体長別の昼夜の採集比にフィットさせる。6つのパラメータ推定を AD model builder (Maunder 2004)を用いて行ったが，適当な推定値を得るために，推定の順番について試行錯誤を行ない，Prd と Prn が類似した値となる制約をおいた。なお，この解析にあたっては，同時同所でサンプルを得る必要があったため，2004年と2005年の調査航海において，ボンゴネット（目合い0.335 mm と0.100 mm）の斜め曳きで得られた個体を用いた。

耳石径，耳石の成長速度の統計解析

ある仔魚1個体から DAH ごとに耳石径（μm, OR; otolith radius）と耳石の成長速度（μm day-1, GR; growth rate，1日の耳石輪紋幅）が得られる。このようなデータの取得方法は反復測定と呼ばれる。本研究で用いた OR には自己相関性（例えば，若齢時に大きな個体は高齢になっても大きい）が認められた（Appendix 4-1）。成長解析には反復測定において，応答変数に自己相関性が認められる事態を考慮した一般線型モデル（Genral linear model, Chambers & Miller 1995, Tanaka *et al*. 2006）を用いた。なお，下記の一般線型モデルは全て誤差構造は正規分布 N（0，σ2）を仮定した。解析にあたっては，SAS software (vers. 9.2, SAS Inst., Inc.) の PROC MIXED を用いた。

体サイズ選択減耗（小さい個体がより減耗する傾向がある）と成長速度選択減耗（成長の遅い個体がより減耗する傾向がある）の有無を確認するために，同じコホートのより若齢とより高齢の個体の，ある同じ日齢での体長，成長速度を比較し，後者が大きいことを示す。若齢を original，高齢を survivor と称する。本論文では，各追跡について，より前の追跡日で採集された個体を original，より後の追跡日で採集された個体を survivor として比較した。この比較のために，次の一般線形モデルを用いた。

$$\mathrm{Ln[OR[or\ GR]]} = \mu + \mathrm{DAH} + \mathrm{group} + \mathrm{DAH^{*}group} + \text{誤差} \quad (4\text{-}9)$$

ここで Ln は自然対数。group は original か survivor である。誤差構造は正規分布 N (0, σ^2) を仮定した。

パッチ間の OR と GR の違いを把握するために，次のモデルを用いた。

$$\mathrm{Ln[OR[or\ GR]]} = \mu + \mathrm{DAH} + \mathrm{patch} + \mathrm{DAH^{*}patch} + \text{誤差} \quad (4\text{-}10)$$

OR および GR と環境要因の関係を明らかにするための一般線型モデルは次のとおりである。

$$\mathrm{Ln[OR[or\ GR]]} = \mu + \mathrm{DAH} + \text{水温} + \text{成層強度指数} + \text{食物密度} + \text{誤差} \quad (4\text{-}11)$$

ここで，水温（℃）は表層から水深50m までの平均値，成層強度指数（Jm-3），食物密度（ind. L-1），DAH（ふ化後日数，days after hatch）。等分散性を確保するために OR と GR の自然対数で変数変換し，これを応答変数とした。(4-11) 式の最終モデル選択は，F 値を比較する変数減少法を用いて，P = 0.05の基準で，説明変数を最終モデルに取り入れるかを判断した。これらの解析では DAH をカテゴリカル変数として扱った。これは AIC（Akaike's Information Criterion, (Akaike 1973) を用いた予備調査で，そのように扱ったほうが，AIC が小さくなったためである。(4-11) 式の説明変数は，DAH を除いてそれぞれのパッチの追跡日ごとの平均値を与えた。パッチ間，追跡日間の環境要因の比較，OR と GR のパッチ間の比較は Tukey's HSD test で行った。同じパッチにおける original と survivor の OR と GR の比較は t 検定で行った。環境要因は1日の時間差をおいて OR と GR に影響を与えると仮定した。追跡0日目の個体は解析から除外され

Appendix 4-1. Variances (diagonal, shaded), covariances (lower triangle), and Spearman's rank correlations (upp DAH (days after hatch). Rank correlations are significant at the $p < 0.05$ level, which were listed in bold face. Otolith radii were transformed to their natural logarithms prior to this anlaysis

otolith radii	DAH4	DAH5	DAH6	DAH7	DAH8	DAH9	DAH10	DAH11	DAH12	DAH13	DAH14	DAH15	DAH16	DAH17	DAH18	DAH19	DAH20
DAH4	0.0023	**0.83**	**0.72**	**0.64**	**0.57**	**0.47**	**0.36**	**0.36**	0.19	0.12	0.02	-0.09	0.09	0.00	0.17	0.31	**0.94**
DAH5	0.0016	0.0016	**0.89**	**0.78**	**0.70**	**0.57**	**0.46**	**0.42**	**0.29**	**0.31**	0.27	0.22	0.28	-0.01	0.45	0.50	**0.89**
DAH6	0.0014	0.0015	0.0016	**0.91**	**0.83**	**0.70**	**0.59**	**0.51**	**0.33**	**0.26**	**0.35**	0.28	0.25	0.11	0.38	0.43	0.77
DAH7	0.0013	0.0014	0.0015	0.0016	**0.93**	**0.82**	**0.70**	**0.62**	**0.48**	**0.45**	**0.40**	0.29	0.44	0.32	0.52	0.52	0.77
DAH8	0.0014	0.0014	0.0016	0.0017	0.0019	**0.93**	**0.81**	**0.70**	**0.61**	**0.60**	**0.51**	0.43	0.48	0.27	0.45	0.38	0.54
DAH9	0.0012	0.0012	0.0014	0.0016	0.0019	0.0020	**0.93**	**0.83**	**0.76**	**0.69**	0.63	0.53	0.42	0.24	0.24	0.14	0.20
DAH10	0.0009	0.0010	0.0012	0.0014	0.0016	0.0019	0.0020	**0.94**	**0.85**	**0.75**	**0.56**	0.39	0.21	0.14	-0.05	-0.05	0.14
DAH11	0.0008	0.0008	0.0009	0.0011	0.0012	0.0014	0.0015	0.0016	**0.95**	**0.87**	**0.71**	**0.58**	0.31	0.11	-0.05	-0.05	0.09
DAH12	0.0004	0.0005	0.0005	0.0007	0.0009	0.0011	0.0013	0.0014	0.0016	**0.98**	**0.90**	**0.86**	0.60	0.39	0.31	0.29	0.43
DAH13	0.0003	0.0004	0.0003	0.0007	0.0008	0.0009	0.0011	0.0014	0.0017	0.0018	**0.96**	**0.91**	0.69	0.52	0.50	0.48	0.60
DAH14	0.0000	0.0003	0.0003	0.0004	0.0005	0.0006	0.0006	0.0007	0.0009	0.0010	0.0012	**0.97**	**0.79**	**0.76**	**0.79**	**0.74**	0.71
DAH15	-0.0001	0.0003	0.0003	0.0003	0.0004	0.0004	0.0004	0.0006	0.0009	0.0011	0.0013	0.0013	**0.93**	**0.90**	**0.79**	**0.74**	0.71
DAH16	0.0000	0.0003	0.0003	0.0004	0.0004	0.0003	0.0002	0.0003	0.0004	0.0005	0.0006	0.0007	0.0007	**0.96**	**0.76**	**0.76**	0.77
DAH17	0.0000	0.0002	0.0001	0.0002	0.0002	0.0001	0.0000	0.0001	0.0003	0.0005	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	**0.88**	**0.93**	**0.89**
DAH18	0.0001	0.0005	0.0003	0.0002	0.0002	0.0001	-0.0002	0.0000	0.0003	0.0005	0.0007	0.0008	0.0008	0.0008	0.0009	**0.95**	**0.89**
DAH19	0.0001	0.0004	0.0002	0.0000	0.0001	0.0000	-0.0002	-0.0001	0.0002	0.0005	0.0007	0.0008	0.0008	0.0008	0.0009	0.0010	**0.00**
DAH20	0.0005	0.0005	0.0003	0.0002	0.0002	0.0000	-0.0001	0.0001	0.0002	0.0003	0.0003	0.0004	0.0004	0.0004	0.0005	0.0005	0.0004

るため耳石輪紋を測定した1042個体中779個体について解析を行った。追跡日数が2日以下の場合が多く，比較できるパッチが少なくなってしまうため，これ以外の時間差については考慮しなかった　なお，Patch 7の追跡1日目の食物密度が得られなかったために，Patch 7の追跡2日目の個体も解析から除外した。

成層強度指数（STP; stratification parameter）は水柱の鉛直的な海水密度を一様にするのに必要なエネルギーと定義され（Simpson *et al*. 1979, Lee *et al*. 2005, Allain *et al*. 2007），大きいほど水柱がより成層していることになる。鉛直的な海水密度は，CTD観測により得られた表層から水深100 mまでの1 mおきのデータを用いて，既存のフォートランプログラムを用いて計算した

$$STP = \frac{1}{H}\int_{-H}^{0}(\bar{\rho}-\rho z)*g*z\ dz$$

$$\bar{\rho} = \frac{1}{H}\int_{H}^{0}(\rho z)dz$$

ここで，Hは水深（m），ρzは水深z（m）での海水密度，gは重力加速度（ms^{-2}）。

結果

ネット逃避とネット逸出

昼夜での体長組成を比較すると，一部（SL 3.6から4.2 mm）の体長を除いて，昼間のほうが有意により大きな個体を採集していた（Fig 4-1, Kolmogorov-Smirnov test, $P < 0.0001$）。ボンゴネットの目合い別

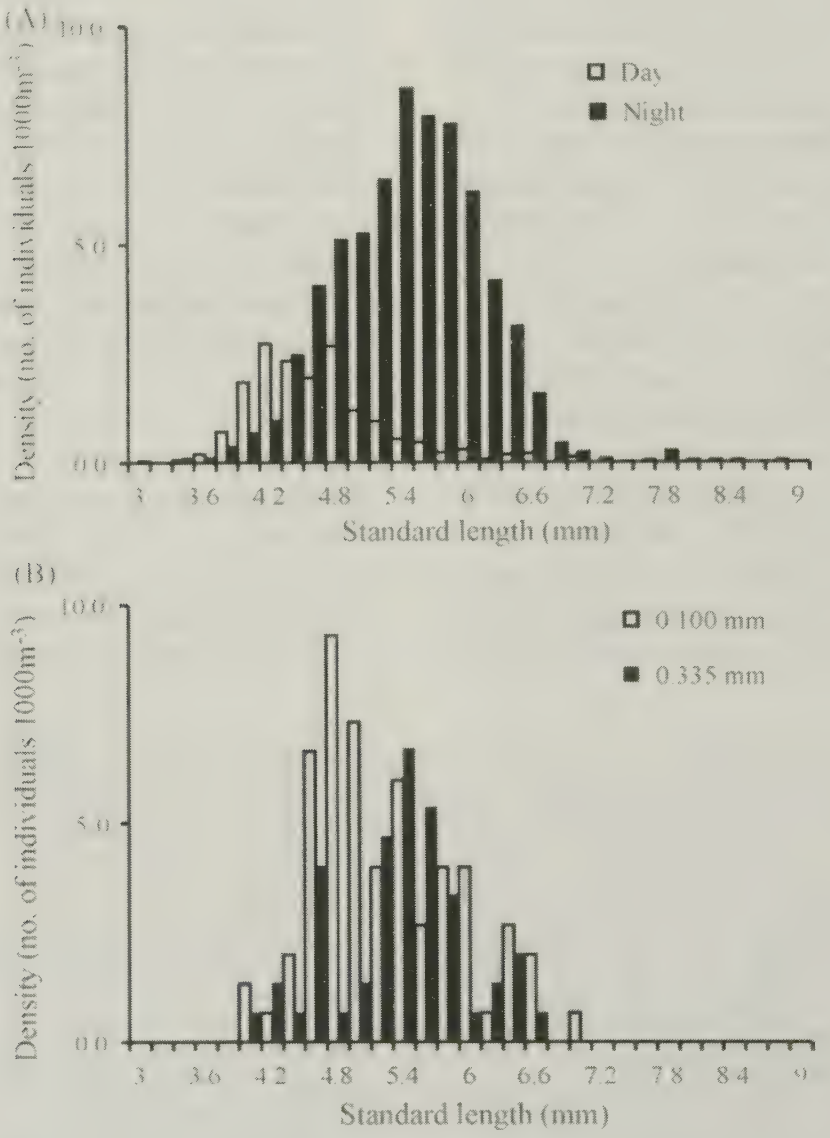


Fig. 4-1. Differences of standard length frequencies of (A) sampling time (day and night) collected by the 2-m ring net and (B) mesh aperture (0.335mm and 0.100 mm) using the 70 cm bongo net

(0.100 mm と0.335 mm) の体長組成を比較すると，ほぼ同一の体長組成を示したが，小さな目合いのネットで採集された個体のほうが有意に小型であった (KS-test, P =0.03)。

実際の昼夜の採集比 (Nd/Nn, Fig 4-2 A) をもとに，SL 3.4から7.0 mm の採集確率の推定を行った。ただし，SL 3.6～4.2 mm では昼夜の採集比が1.0を超えるので，これは除外し，7.0 mm のカテゴリにあっては昼夜の採集比が0.57と高く，予測値と大きく異なるので，これも解析から除外した。ネット入網確率(Ped) は SL 3.0 mm で1.0であったが，4.8 mm では0.53と急激に低下し，SL 6.0 mm でわずか0.01となった (Fig 4-2 B)。いっぽう，昼夜のネット保持確率 (Prd, Prn) は，ともに SL 3.0 mm では0，SL 6.8 mm では1.0と推定された (Fig 4-2 B)。実測した昼夜の採集比に対して，モデルはよくフィットした (Fig 4-2A)。パラメータ c (昼間のネット保持確率 Prd を構成する) 以外のパラメータは分散が小さいので，妥当な推定値であると考えられる (Table 4-1)。これにより昼間の採集確率は，すべての体長カテゴリにおいて低い値であると分かった。また，夜間の採集確率は SL 4.2 mm で0.01，5.4 mm で0.57，6.6 mm ではほぼ1.0であった

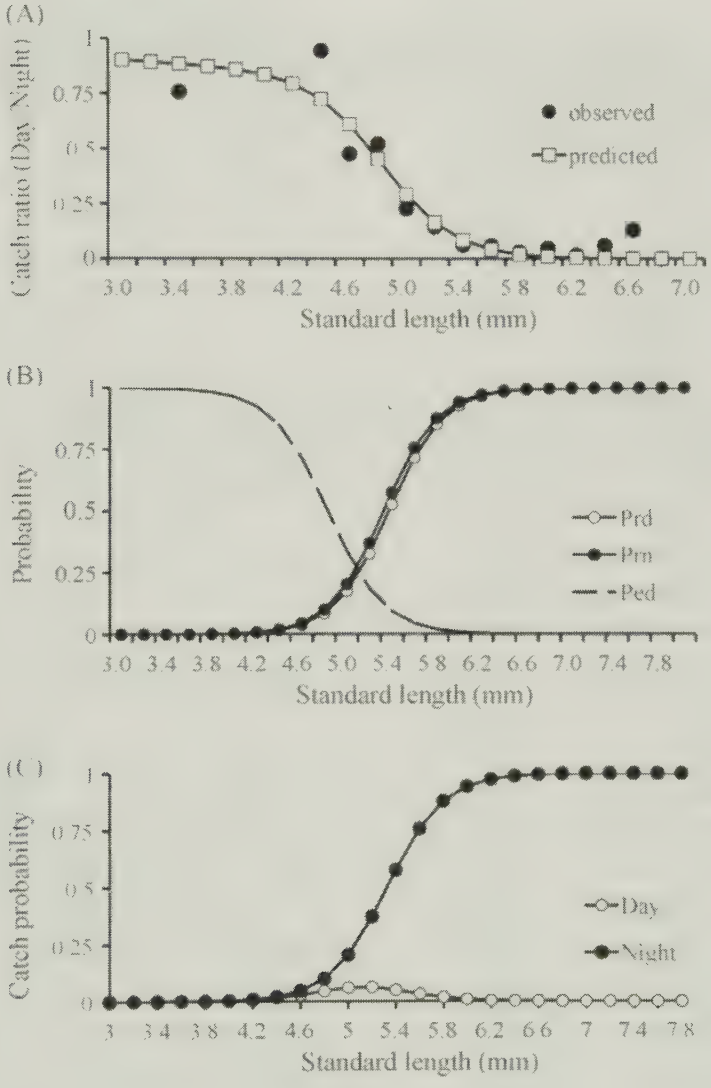


Fig. 4-2. (A) Observed and estimated value of catch ratio (day/night), (B) estimated value of *Prd* (the probability of net retention during the day), *Prn* (the probability of net retention at night) and *Ped* (the probability of net entry during the day), and (C) catch probabilities of day and night by 0.2mm length intervals

Table 4-1. Estimation of parameters for $Ped = 1-[1/\{1+a\exp(-b\mathrm{SL})\}]$, $Prd = 1/\{1+c\exp(-d\mathrm{SL})\}$, and $Prn = 1/\{1+e\exp(-f\mathrm{SL})\}$. *Ped* is probability of net entry during the day, *Prd* is probability of net retention during the day, and *Prn* is probability of net retention at night. SL is larval standard length (mm)

parameter	estimate	s.e.	CV
a	4.48×10^9	5.02×10^7	0.01
b	4.14	0.68	0.16
c	2.49×10^9	6.07×10^8	2.44
d	4.00	0.06	0.02
e	4.55×10^9	1.06×10^8	0.02
f	4.17	0.65	0.16

Table 4-2. Catch probabilities of day and night by 0.2 mm length intervals

SL (mm)	Night	Day	Day/Night
3.0	0.00	0.00	0.83
3.2	0.00	0.00	0.86
3.4	0.00	0.00	0.88
3.6	0.00	0.00	0.88
3.8	0.00	0.00	0.86
4.0	0.00	0.00	0.84
4.2	0.01	0.01	0.80
4.4	0.02	0.01	0.73
4.6	0.05	0.03	0.61
4.8	0.10	0.05	0.46
5.0	0.20	0.06	0.29
5.2	0.37	0.06	0.17
5.4	0.58	0.05	0.09
5.6	0.76	0.03	0.04
5.8	0.88	0.02	0.02
6.0	0.94	0.01	0.01
6.2	0.97	0.00	0.00
6.4	0.99	0.00	0.00
6.6	1.00	0.00	0.00
6.8	1.00	0.00	0.00
7.0	1.00	0.00	0.00
7.2	1.00	0.00	0.00
7.4	1.00	0.00	0.00
7.6	1.00	0.00	0.00
7.8	1.00	0.00	0.00
8.0	1.00	0.00	0.00

(Table 4-2, Fig 4-2 C)。この採集確率は，夜間に SL 4.2 mm の仔魚が 1 個体採集されれば，実際は100個体が存在することを示している。昼夜の採集比は SL 3.8 mm で0.89を示した後，急減し，SL 5.0 mm で0.29，SL 6.0 mm 以降はほぼ 0 であった。

追跡中の環境要因の変動

水温，成層強度指数および食物量はそれぞれの追跡中に一部を除いて有意に変化しなかった（Tukey's HSD test, $P > 0.05$）。一部とは，Patch 4の最後の 2 日間で，水温と成層強度指数が前日までと比べて有意に変化したこと，Patch 8の最後の 1 日がそれまでより餌密度が高い点などである（Fig 4-3）。パッチ間で比較すると，水温についてはパッチ間には有意差があり，特に Patch 2の水温は有意に低く，Patch 8の水温は有意に高かった（Table 4-3, Appendix 4-2, Tukey's HSD test, $P < 0.05$）。成層強度指数は Patch 1から 3 が高い値を示し，残りのパッチは低い値を示した。Patch 8の食物密度は Patch 2を除く全てのパッチよりも有意に高い値を示した。いっぽう，Patch 3では Patch 1を除いてほかのパッチよりも有意に低い食物密度であった。要約すると，Patch 2はもっとも高水温，もっとも高い食物密度を示し，仔魚の成長に有利な環境であったと考えられる。いっぽう Patch 2はもっとも低水温，Patch 3はもっとも食物密度が低く，仔魚の成長には不利な環境であったと考えられる。

環境要因間の相関分析を144の観測点について行ったところ，食物密度と STP の間には有意な弱い負の相関が得られた（Spearman's correlation coefficient, $r = -0.2428$）。また，水温と STP の間には有意な弱い正の相関が得られた（$r = 0.2439$）。水温と食物密度の間に有意な相関は得られなかった。

大きな体サイズと速い成長速度

DAH7以降ではより大きな仔魚，よりはやく成長する仔魚が高い生残率を示すと思われた。7 つの全てのパッチの耳石微細輪紋のデータをプールして解析すると，original と survivor の OR と GR には有意な違いがあった（Table 4-4; group × DAH, OR; $F_{(7, 710)} = 7.920$, $P < 0.0001$, GR; $F_{(7, 863)} = 6.950$, $P < 0.0001$）。従って同じ DAH でより大きな仔魚，より成長速度の速い仔魚は生残しやすいといえる。

それぞれのパッチでの主要なコホートについて，original と survivor の OR と GR の比較をそれぞれ Fig 4-4と Fig 4-5に示した。Patch 9の OR では，DAH 9 では original と survivor のあいだに大きな違いはみられないが，DAH10と DAH11では survivor の方が大き

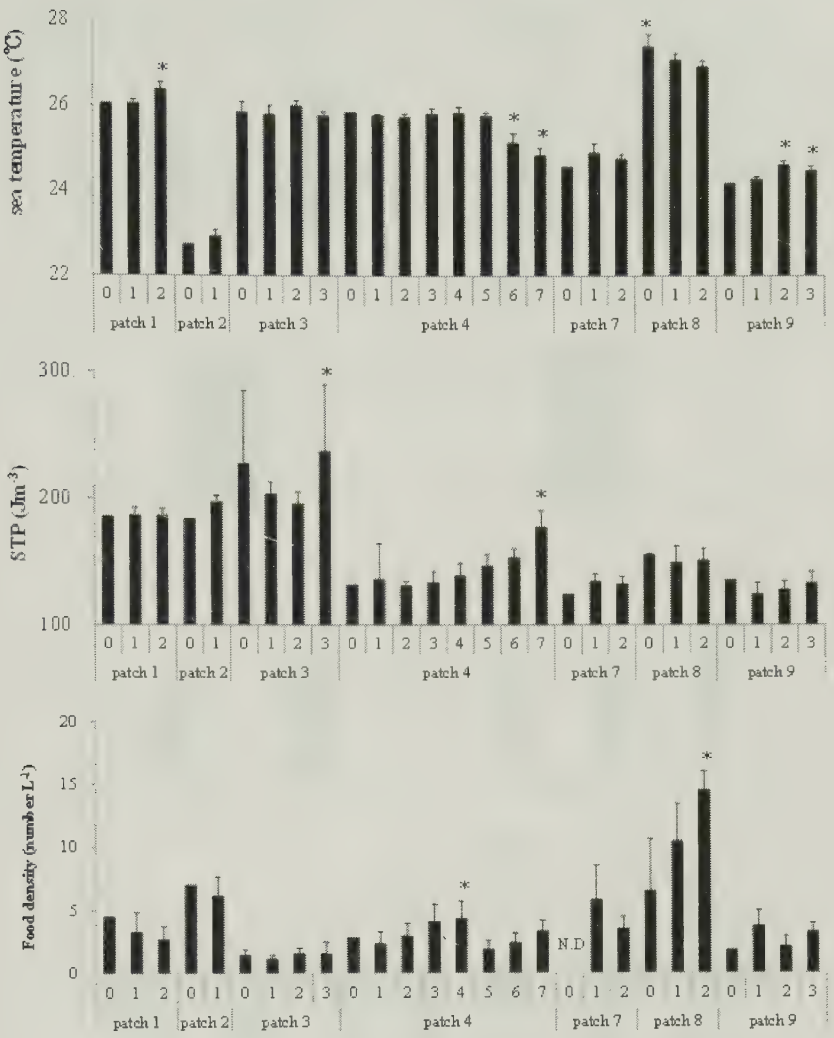


Fig. 4-3. Daily changes of mean [+2SE] of sea temperature (℃ ; upper panel), STP stratification parameter (J m^{-3}; middle panel) and food density (density of copepods and copepod nauplii (number L^{-1}); lower panel) during each tracking. The indicated asterisk shows significant (Tukey HSD test, $P < 0.05$) higher value compared with other tracking days of each tracking

Table 4-3. Average value (2× SE) of sea temperature (℃), STP (stratification parameter, Jm^{-3}), food density (number $L^{-1}$of small copepods and copepod nauplii) and larval density for each tracking day

Patch	sea temperature	STP (J m^{-3})	food density (number L^{-1})
1	26.2 (0.12)	187 (3.58)	3.10 (0.87)
2	22.9 (0.13)	196 (5.62)	6.25 (1.34)
3	25.9 (0.10)	206 (9.83)	1.42 (0.26)
4	25.6 (0.12)	145 (6.14)	3.08 (0.45)
7	24.8 (0.12)	133 (4.06)	4.68 (1.56)
8	27.1 (0.13)	151 (6.37)	11.5 (2.24)
9	24.4 (0.09)	129 (4.60)	2.93 (0.65)

Appendix 4-2. Results of multiple comparison for environmental conditions among patch. temp: sea temperature (℃), STP:stratification parameter (J m^{-3}), food: density of copepods and copepodnauplii (number L^{-1}).

temp	patch 1	patch 2	patch 3	patch 4	patch 7	patch 8
patch 2	0.0001					
patch 3	0.0428	0.0001				
patch 4	0.0001	0.0001	0.0002			
patch 7	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001		
patch 8	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	
patch 9	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001	0.0236	0.0001

STP	patch 1	patch 2	patch 3	patch 4	patch 7	patch 8
patch 2	0.9544					
patch 3	0.1178	0.9530				
patch 4	0.0001	0.0001	0.0001			
patch 7	0.0001	0.0001	0.0001	0.2669		
patch 8	0.0001	0.0001	0.0001	0.8238	0.0712	
patch 9	0.0001	0.0001	0.0001	0.0044	0.9857	0.0021

food	patch 1	patch 2	patch 3	patch 4	patch 7	patch 8
patch 2	0.0064					
patch 3	0.0001	0.0001				
patch 4	1.0000	0.0008	0.0001			
patch 7	0.3191	0.7342	0.0001	0.1327		
patch 8	0.0001	0.1182	0.0001	0.0001	0.0003	
patch 9	0.9999	0.0021	0.0001	1.0000	0.1740	0.0001

Table 4-4. Effects of group (original and survivor) of each tacking experiment on OR (otolith radius) and GR (otolith daily increment rate). Numdf is the numerator degrees of freedom for F. Dendf is the denominator degrees of freedom for F. Group and DAH (days after hatch) are treated as a categorical variable.

dependent variable	explanatory variable	numdf	dendf	F	p
OR	DAH	7	718	1152	<.0001
	group	1	704	11.60	0.0007
	group*DAH	7	710	7.920	<.0001
GR	DAH	7	857	128.77	<.0001
	group	1	887	15.50	<.0001
	group*DAH	7	863	6.950	<.0001

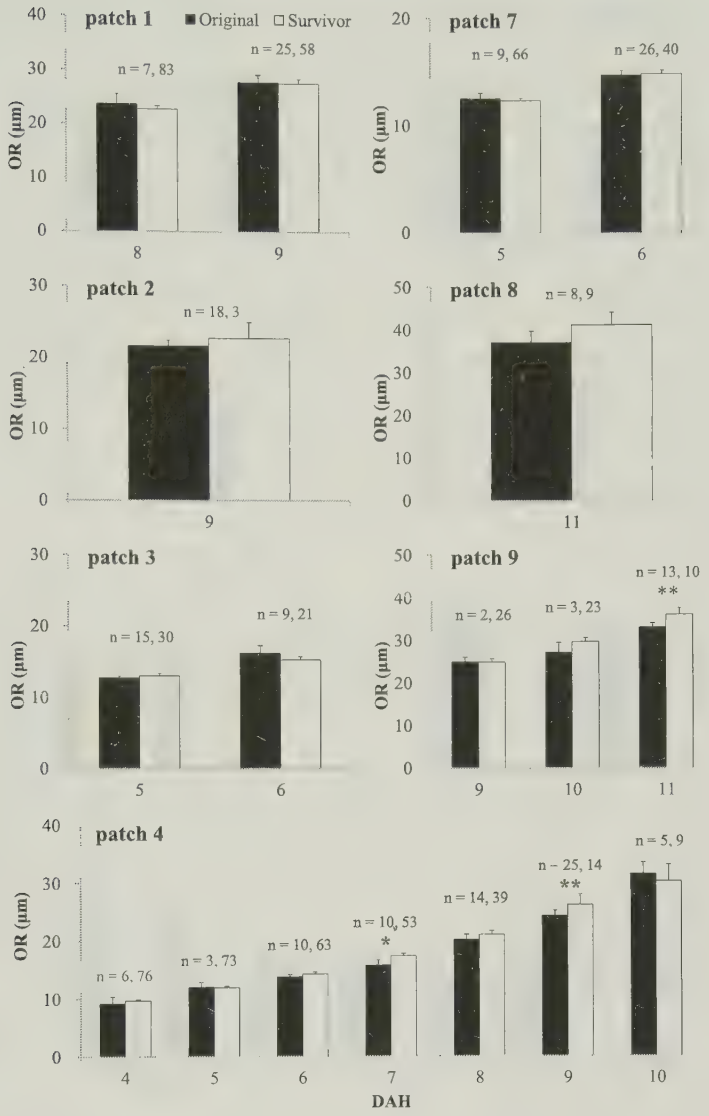


Fig. 4-4. Mean [+2SE] of OR (otolith radius; μm) of larvae in each patch by DAH and by tracking day for dominant cohort of each patch. Significant differences of OR at the same DAH between original and survivor are identified with asterisks (*; $P < 0.05$, **; $P < 0.01$, ***; $P < 0.001$). Numbers of specimen are shown in each panel. The tracking day is the day on which the larva was collected of each tracking session. The original larvae are specimen collected on earlier tracking days in the same cohort, and the survivor larvae are specimen collected on later tracking days in the same cohort.

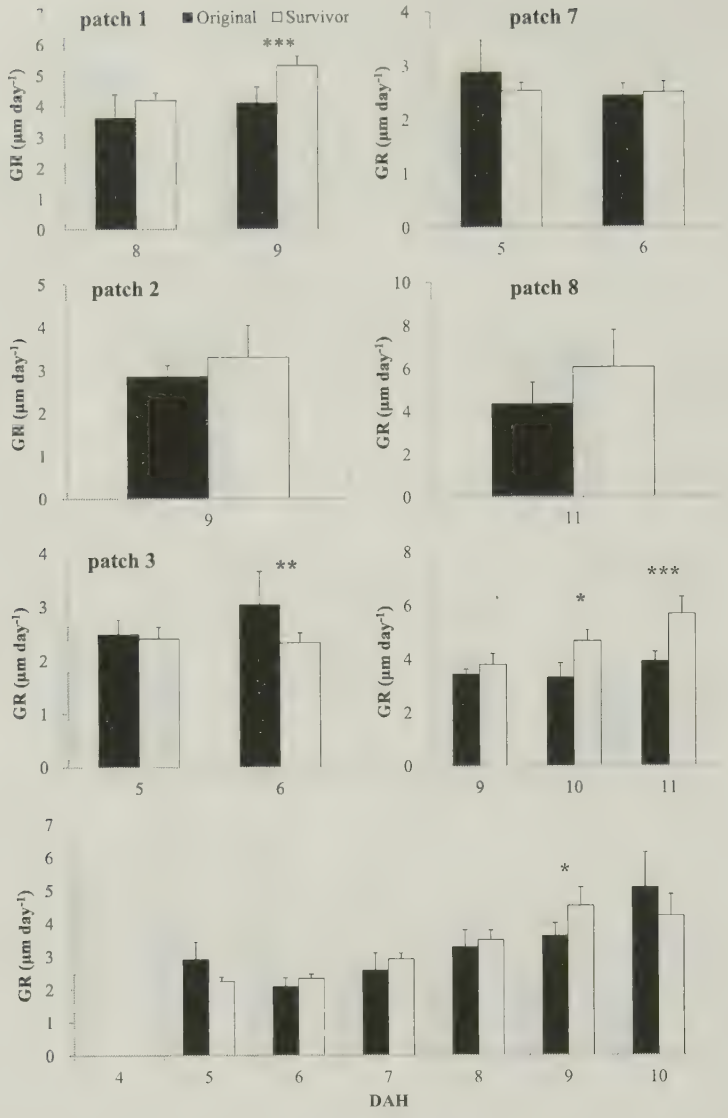


Fig. 4-5. Mean [+2SE] of GR (otolith increment width; μm day^{-1}) of larvae in each patch by DAH and by tracking day for dominant cohort of each patch. Significant differences of GR at the same DAH between original and survivor are identified with asterisks (*; $P < 0.05$, **; $P < 0.01$, ***; $P < 0.001$). Numbers of specimen are same in Figure 3. The tracking day is the day on which the larva was collected of each tracking session. The original larvae are specimen collected on earlier tracking days in the same cohort, and the survivor larvae are specimen collected on later tracking days in the same cohort.

く，DAH11での違いは有意であった（$t = -3.29$, $P < 0.01$）。GR の比較はもっと明瞭な結果を示し，DAH10以降，有意な違いを示した。これらの original と survivor の OR と GR の比較数はそれぞれ18と17である。この比較のうち，survivor がより大きな値を示した比較数の割合は，それぞれ72%（13/18），71%（12/17）であった。OR と GR の比較をあわせて，より若齢（DAH 4-6）とより高齢（DAH 7-11）で区別すると，survivor がより大きな値（OR と GR）を示した比較数の割合は，より若齢で54%（7/13），より高齢で82%（18/22）であった。とくに GR については，DAH 7以降に survivor が小さい値を示したのは Patch 4の DAH 10のみであった。これらのことから，必ずしも有意な違いが得られたわけではなかったが，survivor

はoriginalに比べて，そのORはより大きく，GRはより速い傾向がみられた。

Originalとsurvivorをパッチ間で比較すると，複雑な結果が得られた。同じDAHで比較して，あるパッチのsurvivorのORは必ずしも，別のパッチのoriginalよりも大きいわけではなかった。たとえば，Patch 9のDAH11のsurvivorのORは36.1 μmであったが，Patch 8の同じDAHのoriginalのORは37.1 μmであった。このようなoriginalとsurvivorがパッチ間で逆転する現象はGRについてもみられた。たとえば，patch1と2のDAH9である。

ORおよびGRと環境要因の関係

それぞれのDAHにおけるパッチ間のORとGRには有意な違いがみられた（Table 4-5, Fig 4-6; patch*DAH, OR; $F_{(49, 1939)}$= 3.350, P < 0.0001, GR; $F_{(44, 2069)}$= 2.610, P < 0.0001）。もっとも水温が低いPatch 2のDAH 9のORとGRはPatch 1，4，8および9よりも有意に小さく，また遅かった。もっとも水温が高く，食物密度も高いPatch 8の主要なコホートであるDAH 11におけるORは比較可能なほかの全てのパッチ（Patch 1，2，4および9）よりも有意に大きかった。このときのGRはPatch 2のGRより有意に大きかった（Tukey's HSD test, P < 0.05）。これらのことから，ORとGRの違いは，パッチ間の環境要因

Table 4-5. Difference of OR (otolith radius) and GR (otolith daily increment rate) among patch. Numdf is the numerator degrees of freedom for F. Dendf is the denominator degrees of freedom for F. DAH (days after hatch) is treated as categorical variable.

dependent variable	explanatory variable	numdf	dendf	F	p
OR	DAH	14	1949	733	<.0001
	patch	6	1654	13.23	<.0001
	patch*DAH	49	1939	3.350	<.0001
GR	DAH	12	2201	10.49	<.0001
	patch	6	1895	6.27	<.0001
	patch*DAH	44	2069	2.610	<.0001

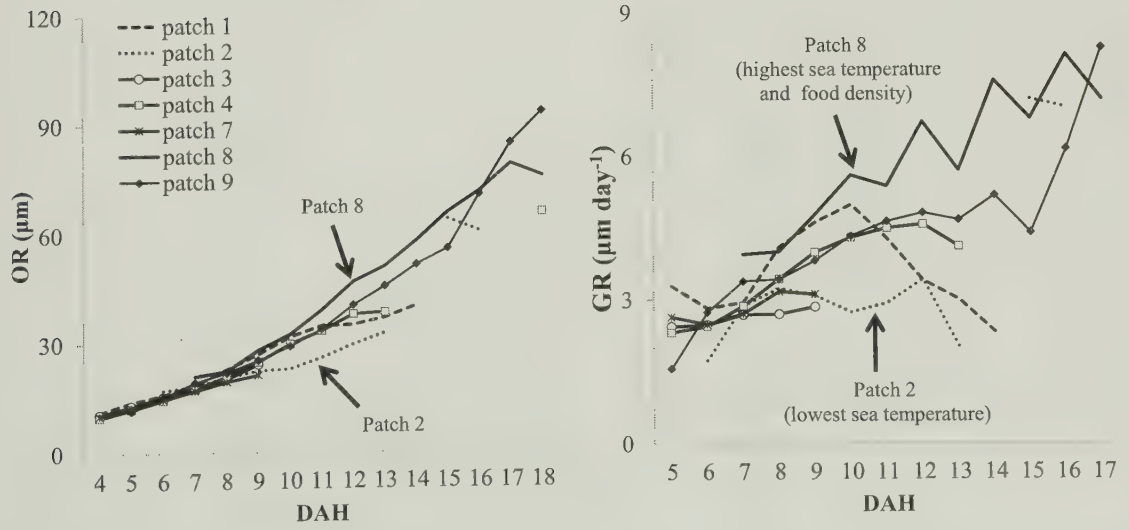


Fig. 4-6. Comparison of OR (upper; otolith radius; μm) and GR (lower; daily otolith increment width; μm day^{-1}) among the patches

の有意な違い（Table 4-3）を反映していると考えられる。

水温と食物密度は，ORとGRに対して有意な正の影響を示した。STPはORでのみ有意な正の影響を示した（Table 4-6）。各説明変数の係数はAppendix 4-3に示した。これによりある水温，STP，餌密度を与えれば，具体的なOR，GRを日齢ごとに計算出来る。たとえば，Patch 2の環境要因（水温22.9 ℃，STP 196 Jm^{-3}，食物密度 6.25 number L^{-1}）ではDAH 7でのLn（OR）は2.833（= 3.443 + 0.0387*22.9 + 0.0006640*196 + 0.009237*6.25 − 1.618）と求められる。なお，Ln（OR）は自然対数で変換したORである。この値は標準体長（SL）では4.5 mmである。これは，標準体長 - 耳石径関係式（SL = 2.658 * Ln（OR）-3.058，R^2 = 0.881，n= 1042）を用いて変換した。

考察

仔魚密度の補正の必要性

昼夜の体長組成の明瞭な違いは，ネット逃避が起きていることを示している。また，プランクトンネットの目合いによる体長組成の違いも有意な違いであったので，ネット逸出も起きていると考えられる。ネット逸出は網目を抜けるという意味だが，0.335 mmの目合いを体長4 mmの仔魚が抜けるとは考えにくいので，実際には，網目と魚体の接触で魚体の破壊によって小型の仔魚が得にくいのかもしれない。これらのことから，仔魚採集密度はネット逃避とネット逸出を考慮して補正する必要があると結論づけられる。本論文で用いた仔魚密度は特に断らない限り，ネット逃避とネット逸出を補正した仔魚密度である。

ミナミマグロ仔魚の昼夜採集比は0.27と報告されており（Davis *et al.* 1991），本研究で得られた昼夜採集比の平均値0.32と類似している。Somerton & Kobayashi（1989）は入網試験において，異なるパッチからサンプルを得た場合は，昼夜採集比，体長別の採集確率の推定の信頼性が下がることを指摘しているが，本研究ではパッチの追跡は成功したと考えられるので，この解析を行うのに適当なサンプルであったといえる。

また，昼夜の採集比の実測値と，モデルの推定値は良く一致した。これらの点から，得られた採集確率は信用できると考えられる。しかしながら，昼間の入網確率（Ped）が体長の増加とともに急激に下がる結果をみると，夜間の入網確率（Pen）を，どの体長カテゴリでも1.0とした仮定は成立していないかもしれない。もし，夜間にネット逃避が起きていれば，体長の小さな個体よりも体長の大きな個体の密度をより過小評価する点には留意する必要がある。

ORおよびGRと環境要因の関係

環境要因はパッチ間で大きくばらついた。2つの

Table 4-6. Growth models. Effects of explanatory variables on OR (otolith radius) and GR (otolith daily increment rate). Numdf is the numerator degrees of freedom for F. Numdf is the numerator degrees of freedom for F. Dendf is the denominator degrees of freedom for F. DAH (days after hatch) is treated as categorical variable. In order to assess the effect of track_day is the collected day of each tracking.

dependent variable	explanatory variable	numdf	dendf	F	p	partial regression coeeficient
OR	DAH	16	1659	2428	<.0001	
	temp	1	776	47.60	<.0001	0.03587
	STP	1	776	19.98	<.0001	0.0006640
	food	1	776	11.66	0.0007	0.009237
GR (initial model)	DAH	15	1382	77.52	<.0001	
	temp	1	744	27.40	<.0001	
	STP	1	744	2.220	0.1366	
	food	1	744	6.150	0.0134	
GR (final model)	DAH	15	1382	82.01	<.0001	
	temp	1	745	37.11	<.0001	0.06886
	food	1	745	4.800	0.02880	0.01295

Appendix 4-3. Estimate coefficeent of each variable for natural log transformed OR (otolithradius) growth model (upper), and natural log transformed GR (gorowth rate of otolithincrement) growth model (lower) for Pacific bluefin tuna larvae. DAH (days after hatch) istreated as categorical variable; temp: sea temperature (℃) ; food: density of copepods andcopepod nauplii (number L^{-1}); STP: stratification parameter (J m^{-3}). Using these estimates ofcoefficient we can estimate natural log transformed (Ln) GR and OR for each DAH. Undera circumstance environmental condition (e.g. for patch 2, temperature; 22.9 ℃, STP; 196(Jm^{-3}) and food density; 6.25 (number L^{-1})) which resulted in the mean Ln (OR) for DAH 7 is 2.833 (=3.443 + 0.03587*22.9 + 0.0006640*196 + 0.009237*6.25 - 1.618), which isconverted in SL 4.5 mm according to the SL-OR relationship (SL = 2.658 * Ln (OR) - 3.058(r^2 = 0.881, n = 1042)).

OR

Effect	DAH	Estimate	StdErr	DF	tValue	Probt
Intercept		3.443	0.1399	776	24.61	<0.0001
temp		0.03587	0.00520	776	6.900	<0.0001
STP		0.0006640	0.0001490	776	4.470	<0.0001
DAH	4	-2.197	0.03664	1659	-59.96	<0.0001
DAH	5	-1.980	0.03661	1659	-54.08	<0.0001
DAH	6	-1.794	0.03659	1659	-49.03	<0.0001
DAH	7	-1.618	0.03658	1659	-44.23	<0.0001
DAH	8	-1.440	0.03659	1659	-39.36	<0.0001
DAH	9	-1.257	0.03661	1659	-34.34	<0.0001
DAH	10	-1.088	0.03664	1659	-29.70	<0.0001
DAH	11	-0.9457	0.03672	1659	-25.75	<0.0001
DAH	12	-0.8135	0.03692	1659	-22.03	<0.0001
DAH	13	-0.7116	0.03739	1659	-19.03	<0.0001
DAH	14	-0.5787	0.03813	1659	-15.18	<0.0001
DAH	15	-0.4676	0.03872	1659	-12.08	<0.0001
DAH	16	-0.3506	0.03821	1659	-9.180	<0.0001
DAH	17	-0.2493	0.03661	1659	-6.810	<0.0001
DAH	18	-0.1742	0.02884	1659	-6.040	<0.0001
DAH	19	-0.0879	0.02014	1659	-4.360	<0.0001
DAH	20	0.000				
food		0.009237	0.002705	776	3.410	0.0007

GR

Effect	DAH	Estimate	StdErr	DF	tValue	Probt
Intercept		0.1030	0.3265	745	0.3200	0.7526
temp		0.06886	0.01130	745	6.090	<0.0001
DAH		-1.065	0.1200	1382	-8.870	<0.0001
DAH	6	-1.015	0.1200	1382	-8.460	<0.0001
DAH	7	-0.8807	0.1201	1382	-7.330	<0.0001
DAH	8	-0.6712	0.1203	1382	-5.580	<0.0001
DAH	9	-0.5058	0.1204	1382	-4.200	<0.0001
DAH	10	-0.4226	0.1208	1382	-3.500	0.0005
DAH	11	-0.4214	0.1218	1382	-3.460	0.0006
DAH	12	-0.3749	0.1245	1382	-3.010	0.0026
DAH	13	-0.4703	0.1305	1382	-3.600	0.0003
DAH	14	-0.1600	0.1388	1382	-1.150	0.2490
DAH	15	-0.2588	0.1501	1382	-1.720	0.0850
DAH	16	-0.1091	0.1589	1382	-0.690	0.4925
DAH	17	-0.0287	0.1698	1382	-0.170	0.8656
DAH	18	-0.2502	0.1701	1382	-1.470	0.1416
DAH	19	-0.1343	0.1297	1382	-1.040	0.3006
DAH	20	0.0000				
food		0.01295	0.005911	745	2.190	0.02880

STP グループ（高い値と低い値）があった。水温は23℃から28℃まで観測され，この値は南西諸島沖のクロマグロの産卵期の表面水温の範囲をカバーしている。食物密度は10（individual L^{-1}）より低いことがほとんどで，これは既報（Taniguch 1977）と類似した値である。従って，得られた環境要因のデータは，環境要因と仔魚の成長の関係を把握する目的に適切であるといえる。

得られた環境要因のデータを用いたGLMによれば，食物密度がクロマグロの仔魚期の成長に早期から影響があることが示された。このことはクロマグロ仔魚が天然海域で飢餓耐性が低いことを示唆し，この特性は飼育実験で観察されている（Tanaka *et al*. 2008）。このような成長や生残に対する食物密度の影響は，飼育実験や天然海域であれば仔魚期の後期や稚魚期でみられるが，仔魚期の早期から天然海域で確かめられることは少ない（Houde 2009）。本研究で得られた，食物密度の成長への影響は，仔魚が実際に晒されている環境要因を的確に捉えることが出来たことを示唆するものであり，パッチ研究が環境要因と生物の応答との関係をとらえるのに適した手法であることを意味する。

ミナミマグロ仔魚にも成長の食物密度依存性が存在することが報告されているので（Jenkins *et al*. 1991），仔魚期の早期における食物密度への依存性はこの温帯性マグロ属仔魚2種の特徴であると考えられる。両種ともほかのまぐろ類に比べれば比較的狭いエリアで，集中的に分布して産卵を行うことが多いと考えられるので，仔魚もパッチ状に分布しやすくなる。この産卵生態が仔魚期の成長における食物密度の重要性をもたらしているのかもしれない。

飼育しているクロマグロ親魚の産卵は水温23℃からの上昇によって引き起こされ（升間ら 2006），クロマグロの仔魚は表面水温26℃台に多く分布することから，クロマグロの産卵は周辺水温をトリガーに起きていると考えられる。本研究では，追跡中に水温は大きく変動しなかったので，季節的な昇温があるとしても，仔魚が経験する水温は産卵された海域の水温がベースになると考えられる。水温が仔魚の成長に有意な正の影響があったことと，この産卵の水温依存性は関連しているだろう。言葉を換えれば，仔魚の高成長が見込まれる海域で産卵が行われていると考えられる。

STPはORにのみ有意な影響をもたらす結果となった　ほかの2つの環境要因とSTPの間に相関があることが原因かもしれないが，GRでSTPが有意な影響を持たない理由はよく分からない。より高いSTP，すなわち鉛直的により強く水柱が成層している状況がORに正の影響をもたらすことになった。南西諸島海域におけるクロマグロの主要な産卵期である5から6月は季節的な水温上昇に伴い，密度躍層が発達する。混合層の水深は50 mに達し，クロマグロ仔魚は混合層にのみ分布する（Satoh 2010）。混合層内は基本的にクロマグロ仔魚の成長に適当な環境であるのだろう。水柱の鉛直的な安定性は，クロマグロ仔魚が混合層内に分布することを許容するので，STPが成長に正の影響をもたらすと考えられる。

環境要因と仔魚の成長に関するGLMの結果を用いれば，Patch 2と8の環境要因を与えた場合（Table 4-3），クロマグロ仔魚はSL 6.0 mmまで成長するのにDAH 11，DAH10かかると推定される（Appendix 4-3の係数表）。クロマグロ仔魚にとってSL 6.0 mmは胃腺（gastric gland）や幽門垂（pyloric caeca）が発達し，魚食性が発現する準備が整う（Kaji *et al*. 1996）。食物の種類が変わることと生残には関連があると思われる（例えばTanaka *et al*. 2006）。クロマグロ仔魚コホートの減耗率は大きくばらつく（0.06 – 2.75 day-1; Satoh *et al*. 2008）ので，成長が1日遅れた場合の生残への実質的な影響は減耗率を考慮しなくてはならない。そうであったとしても環境要因の違いによってもたらされた成長の1日の遅れは，捕食に弱い仔魚期が長くなることにつながるので，生残に負の影響があることは明白である。

仔魚の生残における大きな体サイズと速い成長速度の影響

数多くの選択減耗に関する研究が，仔魚期の生残個体がより高い成長速度と大きなsize-at-ageを示すことを報告している（たとえば，Meekan & Fortier 1996, Hare & Cowen 1997, Nielson & Munk 2004, Sponaugle *et al*. 2010）。しかしながら，飼育実験や一部の天然海域における調査結果によれば，ある特定の捕食者に対しては，より大きな仔魚のほうが小さな仔魚より捕食されやすいことが知られている（Litvak & Leggett 1992, Pepin *et al*. 1992, Takasuka *et al*. 2003, 2004）。本研究ではクロマグロ仔魚に関して，全てのパッチで大きな耳石径（OR）と速い成長速度（GR）を示す仔魚ほど生残率が高かったと考えられた。DHA7以降の早い時期から体サイズ選択減耗（小さい個体がより減耗する傾向がある）と成長速度選択減耗（成長の遅い個体がより減耗する傾向がある）がみられ，日齢が進むに従って，その傾向がより明瞭になった。クロマグロは仔魚期において，その早期から，高成長が高生残をもたらすと考えられる。

OriginalとsurvivorのORについてパッチ間で比較すると，あるパッチのoriginalのORよりも，あるパ

ッチの survivor が小さいことがあった。これは，上述の高成長と高生残の関係に反しているようにみえる。この逆転現象の理由のひとつに，パッチ間の捕食者の分類群の違いや量の違いが挙げられよう。Patch 8の捕食圧が Patch 9よりも高ければ，より小さくとも生き残ることが可能な Patch 9の survivor の OR が Patch 8の original よりも小さくなることは起こりうる。残念なことに本研究においては捕食者の情報は得られていない。さらには，減耗率をコホート別に求め，成長と比較すれば，より定量的な成長と生残の関係が明らかになる。そうではあっても，高成長が高生残をもたらす関係は全てのパッチで起きていたことは明らかである。クロマグロでは仔魚期の成長速度が大きい個体が加入魚となるのであるが，同時に仔魚期における成長速度の分布には，仔魚と加入魚の間で重なりがみられ（Tanaka *et al*., 2006），本研究でみられた survivor と original のパッチ間の逆転は，高成長が高生残をもたらす関係を破綻させずとも，あり得る範囲の違いといえる。

要　約

クロマグロの漁獲量の約７割を日本が占め，漁獲量の年変動が大きい。漁獲の多くは未成魚であるため，全体の漁獲量が本種の加入変動の影響を受けやすく，クロマグロの加入量は年によっておよそ６から10倍異なることが知られている。このため，本種の加入変動機構を研究することは，資源生態学的にも資源管理方策を検討する上でも重要である。多くの海産魚類において加入の年変動を決定づける時期は産卵されてから加入までの時期と考えられる。加入の年変動機構解明に関する研究は長い歴史を持ち，多くの仮説が提唱され，検証が繰り返されてきた。その過程で次第に解ってきたことは，加入変動は一つのメカニズムや要因で決まってはおらず初期生活史を通じて，多くの要素がともに働くということである。その要因は，種によって異なり，同じ種でも年によって異なり，同じ年でも産卵イベントごとに異なるのかもしれない。クロマグロ仔魚の産卵から加入までの初期生活史における減耗，輸送および拡散についての知見は断片的であり，環境要因と関連させた加入量の変動メカニズムは，ほとんどわかっていない。個体が生物環境（食物環境，捕食環境），物理環境（水温，流況）へ応答し，その結果，生残した個体数を足しあげたものが，その年級の加入量となる。本研究では，仔魚パッチを追跡する，パッチ研究と呼ばれる手法を採用した。連続的に目的生物を採集し，同時に生物的要因，物理的環境も測定することで，より明瞭な環境要因と仔魚の成長・生残との関係の把握が期待できるからである。

本論文は，クロマグロの加入変動機構の理解を深めるために，南西諸島海域において，クロマグロ仔魚パッチを追跡する手法を用いて，パッチの成長と生残と環境要因の関連を明らかにするものである。第２章ではパッチ研究の手法の妥当性，すなわち，クロマグロ仔魚パッチの発見と追跡が可能かについて論じた。第３章では，仔魚期の輸送と分布生態を把握し，適切な観測範囲および黒潮と中規模渦の加入過程における役割を議論した。第４章では，初期生活史において，成長の良否が加入変動に深く関わっていると考えられるので，成長と生残について詳しく述べた。

パッチ発見と追跡ブイのパッチ追跡能力

2004年から2008年の５月，６月において，南西諸島沖で７つのパッチを追跡ブイで標識し，最短28時間から最長171時間，追跡した。これらのパッチには発見順に続き番号で呼称した。追跡した７つのパッチは発見までに平均52回（６から80回）のプランクトンネット曳網を要した。

追跡中のブイの流向，流速と，ADCP（Acoustic Doppler Current Profiler）で観測した流向，流速は，一部（Patch 4でブイの流速分布がやや左に裾を引いている）を除いて，ほぼ同じ分布を示した。追跡ブイは表層の流れをとらえていたといえる。もし，仔魚が海の流れに受動的に従って輸送されていれば，ブイを追いかけながらブイ周辺で連続的に採集することで，同じパッチから仔魚が採集できる。実際に，追跡中にクロマグロ仔魚の体長組成の体長モードは経日的に増加した（0.2～0.9 mm day^{-1}）。別途，耳石輪紋解析から得られたクロマグロ仔魚期の成長速度は0.25から0.85 mm day^{-1}であり，体長モードから推定した成長速度とほぼ一致した。したがって，仔魚は受動的に輸送されており，一部（仔魚の採集がとても少なかった Patch 8の追跡２日目）を除くと，全てのパッチの追跡に成功し，同じパッチから連続してクロマグロ仔魚を採集できたといえる。

輸送，分布生態

パッチ追跡中の適切な観測範囲，観測方法を把握する目的で，パッチの水平的な大きさを，小規模（数百m～１km）から中規模（～20 km 四方）のスケールでとりまとめた。パッチは複数のコホート（同じ日に孵化した発生群）で構成されていた。バリオグラム（variogram）を用いて，仔魚分布の空間構造を把握した。バリオグラムのパラメータの一つであるレンジ（観

測点間の仔魚密度の相関が無くなる距離で，本研究ではパッチの水平的な大きさの指標とした）は追跡中に有意に変化せず，DAHが進んでも有意に変化しなかった。典型的には15 km四方程度の範囲にパッチは広がり，少なくとも数日から1週間程度は，輸送されている途中のパッチの空間構造は安定的であったと考えられた。安定的であったとは，詳細な水平分布はそのときの外的要因（海況や捕食）により変容するものの，平均15 km四方程度の範囲で全体としてまとまりを失わないことと考えられる

クロマグロ仔魚の鉛直分布については，混合層（水深50 mまで）のより上層にのみクロマグロ仔魚は分布し，明瞭な日周鉛直移動性は示さなかった。パッチを構成する仔魚個体は，産卵海域に分布する中規模渦（半径100から500 km）の流れに従って，ともに輸送されると考えられた。この渦は産卵海域をゆっくりと西進（1日あたり8 km程度）し，そのうちのいくつかは黒潮に融合する特徴がある。産卵海域と1000 km北方に存在する加入域は黒潮によってリンクされている。以上から，パッチをとらえるとしたら，7.5 kmおきにサンプリングするのが適当であろう　パッチ全体を観測する必要があれば，30 km四方程度を観測範囲とするべきである。また，本研究で用いた空間統計学的手法で仔魚密度の等密度線を描画し，観測海域の仔魚密度を推定するには，一日の観測点は少なくとも7点，もしくはそれ以上が望ましく，ラグを同一とするために観測点間距離は一定とするのが望ましい。

初期成長と生残

クロマグロ仔魚は昼夜で体長組成が明瞭に異なっていたので，ネット逃避が起きていたといえる。また，プランクトンネットの目合いによる体長組成も有意な違いを示したので，ネット逸出もおそらく起きていると考えられる。これらのことから，仔魚採集密度はネット逃避とネット逸出を考慮して補正する必要がある。環境要因はパッチ間で大きくばらついた。水温は南西諸島沖のクロマグロの産卵期の表面水温の範囲をカバーしている。食物密度は既報と類似した値であった。従って，環境要因と仔魚の成長の関係を把握する目的に，得られた環境要因のデータは適切といえる。これらのデータを用いて行ったGLM（一般線型モデル）解析により，仔魚の成長（耳石径（OR），耳石の成長速度（GR））と水温，成層強度指数（水温と塩分の鉛直プロファイルから得られる。水柱を一様にするエネルギーで，大きいほど水柱の成層が強い），食物密度との関係を把握した。水温と食物密度はOR，GRに対して正の有意な効果を持ち，STPはORに対してのみ正の効果があった。この解析で得られた回帰式を用いたところ，SL 6.0 mmまで成長する日数に場合によって1日の違いが生じる可能性が示唆された。環境要因の違いによってもたらされた成長の1日の遅れは，捕食に弱い仔魚期が長くなることにつながるので，生残に負の影響があるといえる。

全てのパッチで大きな耳石径と速い成長速度を示す仔魚ほど生残率が高かったと考えられた。DHA7以降の早い時期から体サイズ選択減耗（小さい個体がより減耗する傾向がある）と成長速度選択減耗（成長の遅い個体がより減耗する傾向がある）がみられ，日齢が進むに従って，その傾向がより明瞭になってきた。クロマグロは仔魚期において，その早期から，高成長が高生残をもたらすと考えられる。

謝　辞

本研究のとりまとめにあたり，終始懇切丁寧なご指導とご教鞭を賜り，さらに本論文をご校閲いただいた東北大学大学院農学研究科　片山知史教授に心より深く感謝申し上げる。

東北大学大学院農学研究科　遠藤宜成教授，中嶋正道准教授には，本論文をご校閲いただくとともに，種々のご指導，有益なご助言をいただいた。深く感謝申し上げる。同　佐々木浩一准教授，伊藤絹子助教には，本研究のとりまとめにあたって，様々なご助言，ご協力をいただいた。心よりお礼申し上げる。

本研究の計画と実施にあたり，国際水産資源研究所（当時。遠洋水産研究所）調査船　俊鷹丸の小野田勝船長（2004～2007年），寺田靖船長（2008年）および船員の方々の常なるご支援とご助言をいただいた。感謝申し上げる。西海区水産研究所の田中庸介博士には，乗船調査と論文執筆にあたり，多くのご助言とご教示を賜った。ここに記して，深く感謝申し上げる。中央水産研究所の稲掛伝三博士には調査航海への配慮をいただき，増島雅親博士，岡崎誠博士には調査航海に乗船いただくとともに，論文執筆にあたっては海洋学に関する多くのご助言をいただいた。深く感謝する。国際水産資源研究所の魚住雄二所長，鈴木治郎博士，宮部尚純博士，本多仁博士，小倉未基博士，岡本浩明博士，田邉智唯博士，加藤慶樹博士には，研究の遂行と論文の執筆にあたり多くのご配慮とご教示をいただいた。ここに記して深くお礼申し上げる。船上での調査遂行にあっては，平本紀久雄博士，張成年博士，岩橋雅行博士，浅川英治氏，是永和行氏，山田昌宏氏，村井健太氏，漆坂司氏，谷川雅浩氏，西村啓太氏，須田雅之氏には，多くのご尽力とご支援をいただいた。感謝申

し上げる。西海区水産研究所の星野浩一博士には魚類分類作業について，ご教示をいただいた。採集物の分類群別の単離作業にあたっては，須田雅之氏，奈良修次氏，浅井洋氏，高橋由行氏，谷川雅浩氏のご協力をいただいた。心よりお礼申し上げる。

文 献

阿部寧，竹内幸夫，市野川桃子，2010: クロマグロ 太平洋 (http://kokushi.job.affrc.go.jp/H22/H22_04.html) Accessed availabel at 2011/6/7.

Akaike H., 1973: Information theory and an extension of the maximum likelihood principle. Proc. 2nd Inter. Symposium on Information Theory. In Akademiai Kiado, eds. by Petrov B. N. and Csaki F., Budapest, pp. 267–281.

Allain G., Petitgas P., Lazure P. and Grellier P., 2007: Biophysical modelling of larval drift, growth and survival for the prediction of anchovy (*Engraulis encrasicolus*) recruitment in the Bay of Biscay (NE Atlantic). *Fish. Oceanogr.*, **16**, 489–505.

Bayliff W. H., 1994: A review of the biology and fisheries for northern bluefin tuna, Thunnus thynnus, in the Pacific Ocean. FAO Fish Tech Pap **336**, 244–295.

Boehlert G. W. and Mundy B. C., 1994: Vertical and onshore-offshore distributional patterns of tuna larvae in relation to physical habitat features. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **107**, 1–13.

Brothers E. B., Prince E. D. and Lee D. W., 1983: Age and growth of young-of-the-year bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, from otolith microstructure. NOAA technicl Report NMFS **8**, 49–59.

Campana S. E., Smith S. J. and Hurley P. C. F., 1989: A drift retention dichotomy for larval haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) spawned on Browns Bank. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **46**, 93–102.

Chambers R. C. and Miller T. J., 1995: Evaluating fish growth by means of otolith increment analysis. In Recent Developments in Otolith Research special properties of individual-level longitudinal data, eds. by Secor D. H., Dean J. M., Campana S. E., *University of South Carolina Press*, Columbia, pp. 155–175.

Chambers R. C. and Trippel E. A., 1997: Early life history and recruitment: legacy and challenges. In Early Life History and Recruitment in Fish Populations, eds. by Chambers R.C. and Trippel E.A., Chapman & Hall, London, pp. 515–549.

Chereskin T. K., Niiler P. P. and Poulain P. M., 1989: Effect of upper-ocean shear on flexible drogued drifters. J. Atmos. Ocean. Technol., **6**, 243–253.

Chow C. and Inoue S., 1993: Intra-and interspecific restriction fragment length polymorphism in mitochondrial genes of *Thunnus* tuna species. *Bull. Natl. Res. Inst. Far Seas Fish.*, **30**, 207–225

Collette B. B., 1999: Mackerels, molecules, and morphology. Soc. Fr. ichtyol., **25**, 149–164.

Collette B. B., Nauen CE., 1983: Scombrids of the world. An annotated and illustrated catalogue of tunas, mackerels, bonitos, and related species known to date. FAO Fish Synop No. **125**, 1–137.

Cushing D. H., 1975: Marine ecology and fisheries, Cambridge University Press, Cambridge.

Davis T. L. O., Jenkins G. P. and Young J. W., 1990a: Patterns of horizontal distribution of the larvae of southern bluefin (*Thunnus maccoyii*) and other tuna in the Indian Ocean. *J. Plankton. Res.*, **12**, 1295–1314.

Davis T. L. O. Jenkins G. P. and Young J. W., 1990b: Diel patterns of vertical distribution in larvae of southern bluefin *Thunnus maccoyii*, and other tuna in the East Indian Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **59**, 63–74.

Davis T. L. O., Lyne V. and Jenkins G. P., 1991: Advection, dispersion and mortality of a patch of southern bluefin tuna larvae *Thunnus maccoyii* in the East Indian Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **73**, 33–45.

Dower J. F., Pepin P. and Leggett W. C., 2002: Using patch studies to link mesoscale patterns of feeding and growth in larval fish to environmental variability. *Fish. Oceanogr.*, **11**, 219–232.

Ebuchi N. and Hanawa K., 2000: Mesoscale eddies observed by TOLEX-ADCP and TOPEX / POSEIDON altimeter in the Kuroshio recirculation region south of Japan. *J. Oceanogr.*, **56**, 43–57.

Ebuchi N. and Hanawa K., 2001: Trajectory of mesoscale eddies in the Kuroshio recirculation region. *J. Oceanogr.*, **57**, 471-480.

Ellertsen B., Fossum P., Solemdal P. and Sundby S., 1989: Relation between temperature and survival of eggs and first-feeding larvae of northeast Arctic cod *Gadus morhua L.*). Rapports et Procès-Verbaux des Réunions du Conseil Permanent International pour l' Exploration de la Mer, **191**, 209-219.

Farley J. H. and Davis T. L. O., 1998: Reproductive dynamics of southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*. *Fish. Bull.*, **96**, 223-236.

Fortier L. and Leggett W. C., 1985: A drift study of larval fish survival. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **25**, 245-257

Fortier L. and Quinonez-Velazquez C., 1998: Dependence of survival on growth in larval pollock *Pollachius virens* and haddock *Melanogrammus aeglefinus*: a field study based on individual hatchdates. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **174**, 1-12.

Fuiman L. A., Rose K. A., Cowan J. H. and Smith E. P., 2006: Survival skills required for predator evasion by fish larvae and their relation to laboratory measures of performance. *Animal. Behavior.*, **71**, 1389-1399.

Gallego A., North E. W. and Petitgas P., 2007: Introduction: status and future of modelling physical-biological interactions during the early life of fishes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **347**, 121-126.

Gibbs R. H. and Collette B. B., 1967: Comparative anatomy and systematics of the tunas, genus *Thunnus*. *Fish. Bull.*, **66**, 65-130

Gordoa A., Olivar M. P., Arevalo R., Vinas J., Moli B. and Illas X., 2009: Determination of Atlantic bluefin tuna (*Thunnus thynnus*) spawning time within a transport cage in the western Mediterranean. ICES *J. Mar. Sci.*, **66**, 2205-2210.

原田輝雄, 村田　修, 小田誠二 (1980) キハダ仔稚魚の飼育と形態の変化, 近畿大学農学部紀要, **13**, 33-36.

Harden-Jones F., 1968: Fish Migration, Edward Arnold, London.

Hare JA. and Cowen R. K., 1997: Size, Growth, Development, and Survival of the Planktonic Larvae of *Pomatomus Saltatrix* (Pisces: Pomatomidae). *Ecology*, **541**, 2415-2431.

Heath M. R., 1992: Field investigations of the early life stages of marine fish. *Adv. Mar. Biol.*, **28**, 1-174.

Heath M. R. and MacLachlan P., 1987: Dispersion and mortality of yolk-sac herring (*Clupea harengus L.*) larvae from a spawning ground to the west of the Outer Hebrides. *J. Plankton. Res.*, **9**, 613-630.

Higgins B. E., 1970: Juvenile tunas collected by midwater trawling in Hawaiian waters, July-September 1967. Trans. *Am. Fish. Soc.*, **99**, 60-69.

Hjort J., 1914: Fluctuations in the great fisheries of northern Europe viewed in the light of biological research. Rapports et Procès-Verbaux des Réunions du Conseil Permanent International pour l' Exploration de la Mer, **20**, 1-228.

Hjort J., 1926: Fluctuations in the year classes of important food fishes. *Journal du Conseil Permanent International pour l' Exploration de la Mer*, **1**, 1-38.

Houde E. D., 1987: Fish early life dynamics and recruitment variability. *Am Fish Soc Symp*, **2**: 17-29.

Houde E. D., 1997: Patterns and trends in larval-stage growth and mortality of teleost fish. *J. Fish. Biol.*, **51**, 52-83.

Houde E. D., 2008: Emerging from Hjort' s shadow. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.*, **41**, 53-70.

Houde E. D., 2009: Recruitment variability. In Fish Reproductive Biology, eds. by Jakobsen T., Fogarty M. J., Megrey B. A. and Mokness E., Wiley-Blackwell, Oxford, pp. 91-71.

Iles T. D. and Sinclair M., 1982: Atlantic herring: stock discreteness and abundance. *Science* **215**, 627-633.

Inagake D., Yamada H., Segawa K., Okazaki M., Nitta A. and Itoh T., 2001: Migration of young bluefin tuna, *Thunnus orientalis* Temminck et Schlegel, through archival tagging experiments and its relation with oceanographic condition in the western North Pacific. *Bull. Natl. Res. Inst.* Far Seas Fish., **38**, 53-81.

伊藤智幸, 2004: 新たなクロマグロ回遊図の構築, 海

流と生物資源（杉本隆成編），成山堂書店，東京，pp. 254-261.

Itoh T., 2006: Sizes of adult bluefin tuna *Thunnus orientalis* in different areas of the western Pacific Ocean. *Fish. Sci.*, **72**, 53-62.

伊藤智幸，2009: Contributions of different spawning seasons to the stock of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* estimated from otolith daily increments and catch-at-length data of age-0 fish. 日本水産学会誌，**75**, 412-418.

Itoh T., Shiina Y., Tsuji S., Endo F. and Tezuka N., 2000: Otolith daily increment formation in laboratory reared larval and juvenile bluefin tuna *Thunnus thynnus*. *Fish. Sci.*, **66**, 834-839.

Itoh T. and Tsuji S., 1996: Age anf growth of juvenile southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* based on otolith microstructure. *Fish. Sci.*, **62**, 892-896.

Itoh T., Tsuji S. and Nitta A., 2003: Migration patterns of young Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) determined with archival tags. *Fish. Bull.*, **101**, 514-534.

Jenkins G. P. and Davis T. L. O., 1990: Age, growth rate, and growth trajectory determined from otolith microstructure of southern bluefin tuna *Thunnus maccoyii* larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **63**, 93-104.

Jenkins G. P., Young J. W. and Davis T. L. O., 1991: Density dependence of larval growth of a marine fish, the southern bluefin tuna, *Thunnus maccoyii*. Can. *J. Fish. Aquat. Sci.*, **48**, 1358-1363.

Journel A. G. and Huijbregts CJ., 1978: Mining geostatistics, Academic Press, London.

Kaji T., Tanaka M., Takahashi Y., Oka M. and Ishibashi N., 1996: Preliminary observations on development of Pacific bluefin tuna *Thunnus thynnus* (Scombridae: larvae reared in the laboratory, with special reference to the digestive system. *Mar. Freshw. Res.*, **47**, 261-269.

Kaji T., Oka M., Takeuchi H., Hirokawa J. and Tanaka M., 1999: Development of growth hormone cells of laboratory reared yellowfin tuna *Thunnus albacares* larvae and early juveniles. *Fish. Sci.*, **65**, 583-587.

鴨志田隆，島田浩二，新家富雄，2004:「みらい」搭載流向流速プロファイラデータの高精度化．海洋科学技術センター試験研究報告，**49**, 33-41.

Kasai A., Komatsu K., Sassa C. and Konishi Y., 2008: Transport and survival processes of eggs and larvae of jack mackerel *Trachurus japonicus* in the East China Sea. *Fish. Sci.*, **74**, 8-18.

Kendall A. W., Ahlstorm E. H. and Moser H. G., 1984: Early life stages of fishes and their characters. In Ontogeny and systematics of fishes eds. by Moser G., Richards W. J., Cohen D. M., Fahay M. P., Kendall Jr A. W., Richardson S. L., *Am. Soc. Ichthyol. Herpetol. Spec. Publ.*, **1**, 11-22.

King J. and Iversen R., 1962: Midwater trawling for forage organisms in the central Pacific. *Fish. Bull.*, **62**, 271-321.

Kitagawa T., Kato Y., Miller M. J., Sasai Y., Sasaki H. and Kimura S., 2010: The restricted spawning area and season of Pacific bluefin tuna facilitate use of nursery areas: A modeling approach to larval and juvenile dispersal processes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **393**, 23-31.

Kleisner K. M., Walter J. F., Diamond S. L. and Die D. J., 2010: Modeling the spatial autocorrelation of pelagic fish abundance. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **411**, 203-213.

Kuragano T. and Kamachi M., 2000: Global statistical spacetime scales of oceanic variability estimated from the TOPEX/POSEIDON altimeter data. *J. Geophys. Res.*, **105**, 955-974.

Kuragano T. and Kamachi M., 2003: Altimater's capability of reconstructing realistic eddy fields using space-time optimum interpolation. *J. Oceanogr.*, **59**, 765-781.

Kuragano T. and Shibata A., 1997: Sea surface dynamic height of the Pacific Ocean derived from TOPEX/POSEIDON altimater data: calculation method and accuracy. *J. Oceanogr.*, **53**, 585-599.

Lang L., Grimes CB. and Shaw RF., 1994: Variations in the age and growth of yellofin tuna larvae, *Thunnus albacares*, collected about Mississippi River plume. Environ. *Biol. Fish.*, **39**, 259-270.

Lasker R., 1975: Field criteria for survival of anchovy larvae: the relation between inshore chlorophyll maximum layers and successful first feeding. *Fish. Bull.*, **73**, 453-462.

Lasker R., 1978: The relation between oceanographic conditions, and larval anchovy food in the California Current: identification of factors contributing to recruitment failure. *Rapp P-v Reun Cons Int Explor Mer*, **173**, 212–230.

Lee O., Nash D. M. and Danilowicz B. S., 2005: Small-scale spatio-temporal variability in ichthyoplankton and zooplankton distribution in relation to a tidal-mixing front in the Irish Sea. *ICES J. Mar. Sci.*, **62**, 1021–1036.

Leis J. M., Trnski T., Harmelin-Vivien M., Renon J. P., Dufour V., El Moudni M. and Galzin R., 1991: High concentrations of tuna larvae (pisces: Scombridae) in near-reef waters of French Polynesia (Society and Tuamotu islands). *Bull. Mar. Sci.*, **48**, 150–158.

Li X., Litvak M. K. and Clarke J. E. H., 2007: Overwintering habitat use of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*): defining critical habitat using a novel underwater video survey and modeling approach. Can. *J. Fish. Aquat. Sci.*, **64**, 1248–1257.

Litvak M. K. and Leggett W. C., 1992: Age and size-selective predation on larval fishes: the bigger-is-better hypothesis revisited. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **81**, 13–24.

Lough R. G., Hannah C. G., Berrien P., Brickman D., Loder J. W. and Quinlan J. A., 2006: Spawning pattern variability and its effect on retention, larval growth and recruitment in Georges Bank cod and haddock. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **310**, 193–212.

MacCall1 A. D. and Teo S. L. H., 2011: Exploration of a Hybrid Stock Synthesis-VPA Model of Pacific Bluefin Tuna to Distinguish Between Trends in Recruitment and Changes in Fishing Intensity on Young Fish. ISC/11-1/PBFWG/01, 1–12.

間瀬 茂，武田 純，2001: 空間データモデリング，共立出版，東京，pp. 136–166.

升間主計，手塚信弘，小磯雅彦，神保忠雄，武部孝行，山崎英雄，尾花博幸，井手健太郎，二階堂英城，今泉均，2006: 養成クロマグロの産卵に及ぼす水温の影響．水産総合研究センター研究報告 別冊，**4**，157–171.

Matsumoto W. M., 1958: Description and distribution of larvae of four species of tuna in central Pacific waters. *Fish. Bull.*, **58**, 31–71.

Matsumoto W. M., 1961: Collection and description of juvenile tunas from the central Pacific. *Deep-Sea. Res.*, **8**, 279–285.

Matsumoto W. M., Ahlstrom EH., Jones S., Klawe WL., Richards WJ. and Ueyanagi S., 1972: On the clarification of larval tuna identification particularly in the genus *Thunnus*. Fish. Bull., **70**, 1–12.

Matsushita K., Shimizu M. and Nose Y., 1982: Micro-distribution of anchovy eggs and larvae in Sagami Bay. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 355–362.

Maunder M. N., 2004: Population viability analysis based on combining Bayesian, integrated, and hierarchical analyses. *Acta. Oecol. Int. J. Ecol.*, **26**, 85–94.

McPherson G. R., 1991: Reproductive-biology of yellowfin tuna in the eastern Australian fishing zone, with special reference to the north-western Coral Sea. Aust. J. *Mar. Freshw. Res.*, **42**, 465–477.

Medina A., Abascal F. J., Megina C. and Garcia A., 2002: Stereological assessment of the reproductive status of female Atlantic northern bluefin tuna during migration to Mediterranean spawning grounds through the Strait of Gibraltar. *J. Fish. Biol.*, **60**, 203–217.

Meekan M. G. and Fortier L., 1996: Selection for fast growth during the larval life of Atlantic cod Gadus morhua on the Scotian Shelf. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **137**, 25–37.

Miller J. H., 1973: A quantitive push-net system for transect studies of larval fish and macrozooplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **18**, 175–178.

Miyashita S., 2002: Studies on the seedling production of the Pacific bluefin tuna, *Thunnus thynnus orientalis*. *Bull. Fish. Lab. Kinki Univ.*, **8**, 1–171.

森慶一郎，1970: 日本近海太平洋側におけるマグロ類，とくにキハダ（*Thunnus albacares*）の産卵についての一考察．遠洋水研報，**3**，215–228.

森慶一郎，上柳昭治，西川康夫，1971: キハダの人工ふ化・飼育における仔魚の形態変化．遠洋水研報，**5**，219–231.

Murphy G. I. and Shomura R. S., 1972: Pre-

exploitation abundance of tunas in the equatorial central Pacific. *Fish. Bull.*, **70**, 875-911.

Nakadate M., Kusano T., Fushimi H., Kondo H., Hirono I. and Aoki T., 2011: Multiple spawning of captive Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) as revealed by mitochondrial DNA analysis. *Aquaculture*, **310**, 325-328.

Nielson R. and Munk P., 2004: Growth pattern and growth dependent mortality of larval and pelagic juvenile North Sea cod Gadus morhua. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **278**, 261-270.

二階堂英城, 宮部尚純, 上柳昭治, 1991: メバチ *Thunnus obesus* の産卵時刻と産卵多回性. 遠洋水研報, **28**, 47-73.

西川康夫, 1985: 黒色素胞の分布型によるマクロ属3種の仔魚の識別. 遠洋水研報, **22**, 119-129.

西川康夫, 1986: 1984, 1985年8月, 日本海におけるクロマグロ仔魚の出現について. 水産海洋研究会報, **50**, 186-187.

西川康夫, 本間操, 上柳昭治, 木川昭二, 1985: 遠洋性サバ型魚類稚仔の平均分布, 1956-1981. 遠洋水研報Sシリーズ, **12**: 1-99.

西川康夫, 上柳昭治, 1991: コシナガ仔魚の形態. 遠洋水研報, **28**, 9-11.

沖山宗雄, 1974: 日本海におけるクロマグロ後期仔魚の出現. 日水研報告, **25**, 342.

沖山宗雄 編, 1988: 日本産稚魚図鑑, 東海大学出版会, 東京, pp. 1-1154.

大森信, 池田勉., 1976: 動物プランクトン生態研究法, 共立出版, 東京. pp. 1-229.

Page F. H., Sinclair M., Naimie CE., Loder J. W., Losier R. J., Berrien P. L. and Lough R. G., 1999: Cod and haddock spawning on Georges Bank in relation to water residence times. *Fish. Oceanogr.*, **8**, 212-226.

Pepin P., Dower J. F., Helbig J. A. and Leggett W. C., 2002: Estimating the relative roles of dispersion and predation in generating regional differences in mortality rates of larval radiated shanny (*Ulvaria subbifurcata*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **59**, 105-114.

Pepin P., Shears T. H. and Lafontaine Y., 1992: Significance of body size to the interaction between a larval fish (*Mallotus villosus*) and a vertebrate predator (*Gasterosteus aculeatus*). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **81**, 1-12.

R Development Core Team., 2009: R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna http://wwwR-projectorg.

Radtke R. L., 1983: Otolith formation and increment deposition in laboratory-reared skipjack tuna, *Euthynnus pelamis*, larvae. NOAA Technical Report NMFS **8**, 99-103.

Richards W. J. and Simmons D. C., 1971: Distribution of tuna larvae (Pices, Scombridae) in the northwestern gulf of Guinea and off Sierra leone. *Fish. Bull.*, **69**, 555-568.

Rivoirard J., Simmonds J., Foote K. G., Fernandes P. and Bez N., 2000: Geostatistics for estimating fish abundance, Blackwell Science, London. pp. 1-206.

Roy C., Cury P. and Kifani S., 1992: Pelagic fish recruitment success and reproductive strategy in upwelling areas: environmental compromises. *S. Afr. J. Mar. Sci.*, **12**, 135-146.

坂口隆, 杉本将, 2004: Rで空間統計学, R Book データ解析環境Rの活用事例集（岡田昌史編）, 九天社, 東京. pp. 210-242.

Satoh K., 2010: Horizontal and vertical distribution of larvae of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in patches entrained in mesoscale eddies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **404**, 227-240.

Satoh K., Tanaka Y. and Iwahashi M., 2008: Variations in the instantaneous mortality rate between larval patches of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. *Fish. Res.*, **89**, 248-256.

Schaefer K. M., 2001: Reproductive biology of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) in the eastern Pacific Ocean. *IATTC Bull.*, **21**, 201-272.

Scott GP., Turner SC., Grimes CB., Richards WJ. and Brothers EB., 1993: Indices of larval bluefin tuna, *Thunnus thynnus*, abundance in the Gulf of Mexico; modelling variability in growth, mortality, and gear selectivity. *Bull. Mar. Sci.*, **53**, 912-929.

Shimada B., 1951: Juvenile oceanic skipjack from the Phoenix Islands. *Fish. Bull.*, **52**, 129-131.

新宮千臣, 藁科侑生, 松崎憲雄, 1974: 西部太平洋ではえ縄によって漁獲されるクロマグロの分布. 遠洋水研報, **10**, 109-140.

Shoji J. and Tanaka M., 2007: Growth and mortality

of larval and juvenile Japanese seaperch *Lateolabrax japonicus* in relation to seasonal changes in temperature and prey abundance in the Chikugo estuary. *Est. Coast. Shelf. Sci.*, **73**, 423–430.

Simpson J. H., Edelsten D., Edwards A., Morris N. C. G. and Tett P. B., 1979: The Islay front: physical structure and phytoplankton distribution. Est. Coast. Shelf. Sci., **9**, 713–726.

Somerton D. A. and Kobayashi D. R., 1989: A method for correcting catches of fish larvae for the size selection of plankton nets. *Fish. Bull.*, **87**, 447–455.

Sponaugle S., Walter K. D., Denit K. L., Llopiz J. K. and Cowen R. K., 2010: Variation in pelagic larval growth of Atlantic billfishes: the role of prey composition and selective mortality. *Mar. Biol.*, **157**, 839–849.

Strasburg D. W., 1960: Estimates of larval tuna abundance in the central Pacific. *Fish. Bull.*, **60**, 231–255.

Suthers I. M. and Sundby S., 1993: Dispersal and growth of pelagic juvenile Arcto-Norwegian cod (*Gadus morhua*), inferred from otolith microstructure and water temperature. *ICES J. Mar. Sci.*, **50**, 261–270.

Takahashi M. and Watanabe Y., 2005: Effects of temperature and food availability on growth rate during late larval stage of Japanese anchovy (*Engraulis japonicas*) in the Kuroshio-Oyashio transition region. *Fish. Oceanogr.*, **14**, 223–235.

Takasuka A., Aoki I. and Mitani I., 2003: Evidence of growth-selective predation on larval Japanese anchovy Engraulis japonicus in Sagami Bay. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **252**, 223–238.

Takasuka A., Oozeki Y., Kimura R., Kubota H. and Aoki I., 2004: Growth-selective predation hypothesis revisited for larval anchovy in offshore waters: cannibalism by juveniles versus predation by skipjack tunas. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **278**, 297–302.

田邉智唯, 2002: 西部北太平洋熱帯域におけるカツオの初期生態に関する研究. 水研センター研報, **3**, 63–132.

Tanabe T., Kayama S., Ogura M. and Tanaka S., 2003: Daily increment formation in otoliths of juvenile skipjack tuna *Katsuwonus pelamis*. *Fish. Sci.*, **69**, 731–737.

Tanabe T. and Niu K., 1998: Sampling juvenile skipjack tuna, *Katsuwonus pelamis*, and other tunas, *Thunnus* spp., using midwater trawls in the tropical western Pacific. *Fish. Bull.*, **96**, 641–646.

Tanaka M., Kaji T. and Nakamura Y., 1996: Developmental strategy of scombrid larvae: High growth potential related to food habits and precocious digestive system development, In Survival stratigies in early life stages of marine resources, eds. by Watanabe Y., Yamashita Y. and Oozeki Y., Aa Balkma, Rotterdam. pp. 125–139.

Tanaka Y., Mohri M. and Yamada H., 2007: Distribution, growth and hatch date of juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the coastal area of the Sea of Japan. *Fish. Sci.*, **73**, 534–542.

Tanaka Y., Satoh K., Iwahashi M. and Yamada H., 2006: Growth-dependent recruitment of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* in the northwestern Pacific Ocean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **319**, 225–235.

Tanaka Y., Satoh K., Yamada H., Takebe T., Nikaido H. and Shiozawa S., 2008: Assessment of the nutritional status of field-caught larval Pacific bluefin tuna by RNA/DNA ratio based on a starvation experiment of hatchery-reared fish. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **354**, 56–64.

Thorrold S. R., 1993: Post-larval and juvenile scombrids captured in light traps: preliminary results from the central Great Barrier Reef lagoon. *Bull. Mar. Sci.*, **52**, 631–641.

辻祥子, 伊藤智幸, 稲掛伝三, 1999: 1997年俊鷹丸第一次航海報告書. 遠洋水産研究所, 清水

上柳昭治, 1969: インド・太平洋におけるマグロ類仔稚魚の分布. 遠洋水研報, **2**, 177–203.

上柳昭治, 西川康夫, 松岡玳良, 1974: カツオの人工ふ化と仔魚の形態. 遠洋水研報, **10**, 179–191.

魚谷逸朗, 斎藤勉, 平沼勝男, 西川康夫, 1990: 北西太平洋産クロマグロ *Thunnus thynnus* 仔魚の食性. 日本水産学会誌, **56**, 713–717.

Wexler J. B., Chow S., Wakabayashi T., Nohara K. and Margulies D., 2007: Temporal variation in growth of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) larvae in the Panama Bight, 1990-97. *Fish. Bull.*,

105, 1-18.

Wexler J. B., Margulies D., Masuma S., Tezuka N., Teruya K., Oka M., Kanematsu M. and Nikaido H., 2001: Early life history studies of yellowfin tuna, *Thunnus albacares* Ⅱ. Age validation and growth of yellowfin tuna, *Thunnus albacares*, larvae reared in the laboratory. *IATTC Bull.*, **22**, 52-91.

Wiebe P. J., Burt K. H., Boyd S. H. and Morton A. W., 1976: A multiple opening/closing net and environmental sensing system for sampling zooplankton. *J. Mar. Res.*, **34**: 313-326.

Yabe H. and Ueyanagi S., 1962: Contribution to the study of the early life history of the tunas. Occasional Report of Nankai Regional Fishery Research Laboratory, **1**, 57-72.

矢部博, 上柳昭治, 渡辺久也, 1966: クロマグロの初期生態及びミナミマグロの仔魚について. Rep. Nankai Reg. *Fish. Res, Lab.*, **23**, 95-129.

Yamada H., Takagi N. and Nishimura D., 2006: Recruitment abundance index of Pacific bluefin tuna using fisheries data on juveniles. *Fish. Sci.*, **72**, 333-241.

安武洋, 西源二郎, 森慶一郎, 1973: 船上におけるメバチ, *Thunnus obesus*, の人工授精, 初期飼育及び前期仔魚の形態. 遠洋水研報, **8**, 71-78

水研センター研報，第37号，147－197，平成25年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 37, 147-197, 2013

博士号論文

飼育したカレイ科魚類の変態期に発現する形態異常とその防除に関する研究[*1]

有瀧　真人[*2]

Studies on the morphological abnormality of Pleuronectidae: focusing on the metamorphosis-related malformation in hatchery reared fish and its prevention

Masato ARITAKI

Abstract: In Japan, pleuronectid species are important resources for coastal fisheries, and 12 species have been assigned for stock enhancement. However, juvenile production program of all pleuronectid species has encountered with frequent occurrence of morphological abnormalities such as abnormal pigmentation (pseudoalbinism on the ocular side and ambicoloration on the blind side), abnormal eye migration (incompletion or absence of eye migration, or both-eye migration to the top of head), and deficit and repetition of some parts of cranial bones, in relation to metamorphosis. The causes and mechanisms of these morphological abnormalities are totally not clarified other than some aspects in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and restricted pleuronectid species.

Thus, objectives of this study are to obtain fundamental information concerning the occurrence of morphological abnormalities in hatchery reared pleuronectid species. In addition, by clarifying the causes and mechanisms, one possible way to prevent the abnormality is suggested.

In chapter Ⅰ, in order to find a general trend of the morphological abnormalities, various asymmetrical characteristics of the juvenile body was examined in detail using eight pleuronectid species obtained from hatchery rearing.

In chapter Ⅱ, the influence of feeding periods of Brazilian *Artemia salina* nauplii (BA) on the occurrence of pseudoalbinism was clarified in two pleuronectid species. The critical period for morphological abnormalities, and therefore for normal asymmetrical development, was determined from the occurrence of the pseudoalbinism.

In chapter Ⅲ, three pleuronectid species, having differential growth and developmental speed, were reared at various temperatures. As the result, I found a clear relationship between the occurrence of morphological abnormalities and speed of larval growth and/or development specific for each species.

In chapter Ⅳ, two pleuronectid species were experimentally reared at various temperatures and the tissue concentrations of thyroxine (T4) and 3, 5, 3′ -triiodothyronine (T3) during metamorphosis were investigated. The result of this chapter suggested the relationship between thyroid hormone levels of metamorphosing larvae and occurrence of morphological abnormalities.

2012年９月10日受理（Received on September10, 2012）
*1 京都大学審査学位論文（Ph.D. Thesis, Kyoto University）（掲載に際し投稿規定に沿って一部修正した）
*2 西海区水産研究所　〒851-2213　長崎県長崎市多以良町1551-8（Seikai National Fisherieis Research Institute, 1551-8, Taira, Nagasaki, Nagasaki 851-2213, Japan）

Following the above mentioned research, I have discussed the possible mechanism and prevention method of morphological abnormalities in Pleuronectidae, and also described the subject for further studies in chapter V.

Ⅰ. Morphological abnormality in hatchery-reared Pleuronectidae

Morphological abnormalities are commonly observed in hatchery-reared juveniles of many pleuronectid species, at ratios much higher than those in wild fish. And therefore, the occurrence of abnormalities have become one of the most serious problems for juvenile production.

In this chapter, the morphological abnormalities were examined on hatchery-reared juveniles of eight pleuronectid species (verfin flounder *Verasper moseri*, spotted halibut *V. variegatus*, slime flounder *Microstomus achne*, stone flounder *Platichthys bicoloratus*, starry flounder *Pl. stellatus*, brown sole *Pseudopleuronectes* herzensteini, cresthead flounder *Ps. schrenki* and marbled sole *Ps. yokohamae*), forcusing on asymmetrical characteristics (eye location, body color, upper jaw, pectoral fin, dentition, and scale) of each body side, comparing with the wild fish of each species.

As the result, it was possible to classify all the juveniles into four morphological types (normal, two types of pseudoalbinism, and ambicoloration) in all 8 pleuronectid species examined. Normal fish had the same charactereristics as in wild fish for both body sides (left and right), after undergoing the asymmetrical metamorphosis. However, the morphological characteristics of both sides in pseudoalbino fish were similar to the blind side of the wild fish, and those in ambicolored fish was similar to the ocular side of the wild fish, suggesting the occurrence of symmetrical metamorphosis. Therefore morphological abnormalities of hatchery-reared juveniles in pleuronectid species were to be considered as "metamorphosis-related malformation".

Ⅱ. Critical timing for the metamorphosis-related malformation in Pleuronectidae

In order to prevent metamorphosis-related malformation of pleuronectid juveniles, it is important to determine the critical developmental stage and/or timing for the malformation. In the Japanese flounder, it is known that BA feeding at a specific timing induces pseudoalbinism in juveniles at a ratio of 100%, and a close relationship was indicated between pseudoalbinism occurrence and the larval stage.

In this chapter, the influence of timing of BA feeding was examined on the occurrence of pseudoalbinism in two pleuronectid species (spotted halibut and brown sole). BA was offered at six different feeing periods from early larval stage (first available to take artemia as diet) to juvenile stage.

As the result, occurrence of pseudoalbinism was about 90-100% in the two pleuronectid species, when BA was given before flexion stage (E stage)(spotted halibut; 10mm TL, brown sole; 8mm TL) suggesting that expression (or non-expression) of pseudoalbinism have been determined before postflexion stage (F stage). Therefore, for the prevention of pseudoalbinism, and possibly other metamorphosis-related malformation too, the stages before postflexion is critically important in pleuronectid species.

Ⅲ. Relationship between the metamorphosis-related malformation and growth and/or development of pleuronectid larvae

The Japanese flounder is a representative flatfish for juvenile production in Japan, and a body of information has been accumulated about the causes, mechanisms and prevention method of malformation. However, there is not enough information available for other flatfishes including pleuronectids. The objective of this chapter is to examine the effects of

rearing temperatures on early larval development and occurrence of metamorphosis-related malformation in spotted halibut, slime flounder and brown sole.

Newly hatched larvae were reared beyond the completion of metamorphosis at various temperatures (6-24° C). All juveniles were classified into four morphological categories as normal, pseudoalbinism (two types, regarding to normal or abnormal eye location) and ambicoloration, based on the body color (pigmentation) and eye location. The growth and developmental speed of the three species were relatively greater in brown sole, middle in spotted halibut and less in slime flounder, and accelerated concomitant with higher temperatures in all three species. The relationship between rearing temperatures and occurrence of the four morphological categories showed species specific tendencies consistent among the repeated experiments. The settlement ages that results in the highest ratio of normal juvenile were relatively young in brown sole, middle in spotted halibut and old in slime flounder. It is noticeable that these settlement ages were similar to those of the wild fish of each species.

Results of the present study strongly suggest the importance to rear pleuronectid larvae at a similar developmental speed as in the wild fish, in order to let the larvae undergo normal metamorphosis, and produce maximum number of normal fish.

Ⅳ. Changes in tissue thyroid hormone levels in metamorphosing pleuronectid larvae reared at various temperatures

In Japanese flounder and summer flounder *Paralichthys dentatus*, involvement of thyroid hormones in metamorphosis has been clarified. Because pseudoalbinism and ambicolorion of pleuronectid species were considered as "metamorphosis-related malformation" in chapter I , it is speculated that thyroid hormones are also related to the occurrence of "metamorphosis-related malformation" in pleuronectid species. In this chapter, I investigated the relationship between changes in tissue thyroid hormone levels and occurrence of normal, pseudoalbinism and ambicolortion by rearing the larvae of spotted halibut and blown sole at 9, 12, 15, 18, and 21℃ .

Tissue concentrations of T4 increased to maximum levels during metamorphic climax (stage G-H) at all the temperatures. No relationship was observed between tissue T3 levels and rearing temperatures. The peak T4 levels were significantly higher at lower temperatures, and appeared earlier when reared at higher temperatures. Since the occurrence of ambicolored fish and pseudoalbino fish was influenced by the rearing temperatures, it is possible that thyroid hormones are involved in the decision for normal formation or metamorphosis-related malformation of the juveniles in pleuronectid species, probably through the peak level or the timing of tissue T4 concentrations.

Ⅴ. The possible mechanism and prevention of metamorphosis-related malformation in Pleuronectidae

In this sturdy, I have clarified that the morphological abnormality of Pleuronectidae was metamorphosis-related malformation, and that occurrence of the malformation was strongly influenced by the rearing temperature with specific patterns in each pleuronectid species. Furthermore, I have described that the occurrence of metamorphosis-related malformation was increased when the pleuronectid larvae were let to grow and/or develop at different speeds from wild fish. In addition, the extent and the timing of peak T4 levels were varied among the fish reared at different temperatures.

These results strongly suggested the involvement of thyroid hormones, which controls metamorphosis of flounders, in the occurrence of metamorphosis-related malformation. Recently, I have obtained preliminary results in two pleuronectid species (spotted halibut and

starry flounder) suggesting that the occurrence of metamorphosis-related malformation is directly decided by the timing of T4 increase. Therefore, the occurrence of normal juvenile and juveniles with metamorphosis-related malformation is probably decided by the growth and/or developmental speed of the larvae through the timing of T4 surge in pleuronectid species.

As mentioned above, in order to prevent the occurrence of metamorphosis-related malformation, it is important to investigate the early life history of the target species in the sea, and to let the larvae grow and develop at a species specific speed similar to the wild fish.

It is necessary further to clarify the mechanism of metamorphosis-related malformation at a level of genetic embryology, in order to effectively develop the better method for reduced occurrence of the malformation.

キーワード：飼育，カレイ科魚類，変態，形態異常，発育・発達

目　次

緒言
第１章　飼育したカレイ科魚類の変態に関わる形態異常
第２章　飼育したカレイ科魚類における変態異常発現の決定時期
第３章　飼育したカレイ科魚類の変態異常と仔魚の成長および発育
第４章　水温を変えて飼育したカレイ科魚類の甲状腺ホルモンの動態
第５章　総合考察：カレイ科魚類の変態異常の防除と発現の機序
要約
謝辞
引用文献

緒言

序　章

カレイ目魚類 Pleuronectiformes はヒラメ科 Paralichthyidae，カレイ科 Pleuronectidae，ウシノシタ科 Cynoglossidae など水産上重要な種を数多く含むグループであり，古くから生態，形態，分類などの基礎研究が多面的に行われてきた。中でも仔魚から稚魚への移行期に体構造と機能が劇的に変化し，眼位や体色などに左右の不相称を生じる変態が研究者の興味を駆りたててきた。

このグループは“異体類”と総称されるように，身体の不相称は眼位（Norman, 1934; Brewster, 1987）や体色（Seikai *et al*., 1987b; Seikai, 1992）だけでなく，体幅（北島ら，1987）鱗（落合，1966; 沖山，1974；青海，1979b），前鼻管（落合，1966；青海，1990），側線，肩帯（落合，1966）鼻孔，胸鰭（Norman, 1934），上顎（Amaoka, 1964; 加藤ら，1974; Sakamoto, 1984; Cooper and Chapleau, 1998），顎歯（Amaoka, 1964；置栖・遊佐, 1979; Sakamoto, 1984; Bürgin, 1986; Cooper and Chapleau, 1998），頭部骨格（Norman, 1934; Bürgin, 1986; Brewster, 1987; Sakamoto, 1984; Cooper and Chapleau, 1998）など全身におよぶ。カレイ目魚類における全身の左右不相称は，他の魚類のみならずどの動物群にも見られない変態に起こる形態形成であり，20世紀初めころから詳細に報告されている（Kyle, 1921）。また，これらは着底以降の生活に適応するための機能分化（Kyle, 1921; 南，1981；岩井，1985；田中，1997）であるため，形態的変化ばかりでなく浮遊から底生への生態的な転換を常に伴う。

この様にカレイ目魚類の変態＝左右の不相称化はこのグループに固有のものであるが，まれに不相称分化の不完全な個体が天然海域から採集されている（Norman, 1934; Dawson, 1962；Dawson, 1967; Veen, 1969）。これら“異常な個体”は Norman（1934）によって体系的にまとめられ，有眼側の体色が欠損した白化（albinism）と無眼側の体色が発現した両面有色（ambicoloration），左右の逆転した逆位（revresal）に区分されている。本邦においても古くは江戸時代にメイタガレイ *Pleuronichthys cornutus* やホシガレイ *Verasper variegatus* の両面有色個体が“両面鰈”として高松松平家が制作した魚類図譜「衆鱗図」（香川県歴史博物館友の会博物図譜刊行会，2001）に収録されている。また，近年では，アカガレイ *Hippoglossoides dubius*（沖山・富, 1970），メイタガレイ（北島ら, 1987），イシガレイ *Platichthys bicoloratus*，マコガレイ *Pseudopleuronectes yokohamae*（有山，2000）などの

形態異常魚が報告されている。しかし，天然海域におけるカレイ目魚類の形態異常魚の出現例はごく限られている（沖山・富，1970；有山，2000）。

本邦では1960年代以降，つくり育てる漁業の推進とともに栽培漁業の技術開発が全国各地で展開され，2000年には魚類だけでも37種の種苗生産および放流が行われている（水産庁・㈳日本栽培漁業協会，2003）。なかでもカレイ目魚類は，ヒラメ科のヒラメ *Paralichthys olivaceus* をはじめカレイ科のアカガレイ，ムシガレイ *Eopsetta grigorjewi*，ホシガレイ，マツカワ *Verasper moseri*，メイタガレイ，ババガレイ *Microstomus achne*，ヤナギムシガレイ *Glyptocephalus kitaharai*，イシガレイ，マガレイ *Pseudopleuronectes herzensteini*，クロガシラガレイ *Ps. schrenki*，マコガレイなど12種が手がけられており，盛んに飼育技術の開発が行われてきたグループといえる（有瀧，1995）。しかし，これらの魚種では，いずれも体色や眼位等の異常が50％以上の高率で出現し，大きな問題となっている（有瀧，1995）。飼育魚に見られる形態異常は，天然魚と同様の区分で類別可能であること，また白化と両面有色は変態完了時に，無眼側の黒化は変態以降に発現することなどがヒラメでは明らかとなっている（青海，1997）。また，先に述べたように天然海域における形態異常魚の観察例はごく少ないことと比べると，飼育条件下ではその出現頻度がきわめて高いことも大きな特徴である（北島ら，1987; Bolker and Hill, 2000）。

一方，ヒラメやマガレイの形態異常魚は摂餌能力が十分でなく，放流しても捕食されやすいことなど（首藤ら，1988; 長倉・有瀧，1990）種苗性の問題が指摘されている。そのため，形態異常の防除はカレイ目魚類における栽培漁業の技術開発を進める上で大きな検討課題となってきた。前述した対象種の中でヒラメは，全国で約4000万尾の種苗が放流されるなど，栽培漁業のモデルとして事業化が進められており（水産庁・㈳日本栽培漁業協会，2003），形態異常の防除対策も様々な面から先進的に試みられている。ヒラメの形態異常は白化が大部分を占め，両面有色の出現率は低いため（青海，1991），対策や研究も白化に集中している（青海，1979a；青海，1979b；青海，1980；青海・篠田，1981；Seikai，1985a；Seikai，1985b; 北島ら，1985；中村・飯田，1986a；福所ら，1987; Seikai *et al.*, 1987a; Seikai *et al.*, 1987b; Seikai *et al.*, 1987c; 三木ら，1990；Seikai, 1992; 高橋，1992; Estévez and Kanazawa, 1996; Haga, 2002）。その中で，青海はヒラメの白化現象を出現部位や程度に基づいて8タイプに類型化し（Seikai, 1985a），鱗や椎骨異常との関連を報告した（青海，1979b；青海，1980）。さらに，正常魚と白化魚における色素芽細胞と粘液細胞の発達過程の比較から，白化が両体側の無眼側化であることを示した（Seikai, 1992）。また，天然動物プランクトンの十分な給餌によって白化の防除がほぼ可能であることを明らかにした（Seikai, 1985b）。加えて，ブラジル産アルテミアノープリウス *Artemia salina*（アルテミア）が白化魚の出現を促進することを逆に利用して，白化の発現に重要な時期が変態開始直前であることを解明している（Seikai, 1985a）。これら基礎的な知見をふまえ福所（1990a，1990b，1991）は種苗生産で発生するヒラメの白化現象やその防除について整理を行っており，飼育水温や餌料環境が大きな影響を与えることを示唆した。また，高橋（1992）は㈳日本栽培漁業協会（日栽協）が4年間行ったヒラメの白化防除対策試験をとりまとめ，餌料の栄養強化もさることながら，浮遊期における仔魚の生残状況が正常率の向上に重要であると結論づけている。このように，ヒラメの形態異常に関しては基礎的な知見の集積も進み，その機序はかなりの部分が解明され，防除方法もほぼ構築されてきた。しかし，これらの方法をカレイ科魚類の種苗生産に用いても効果的でないことが多い（青海，1997）。また，カレイ科魚類における形態異常の試験研究は国内外をあわせてもメイタガレイ（北島ら，1987）やマコガレイ（青海，1985c；睦谷，1988），クロガシラガレイ（Nakamura *et al.*, 1986b），plaice *Pleuronectes platessus*（Dickey-Collas, 1993），Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*（Næss and Lie, 1998）などごく限られた種についてしか行われておらず，なお不明の点が多い（Bolker and Hill, 2000）。

本研究ではカレイ科魚類の形態異常について基礎的な知見を収集し，形態異常発現の機序の解明や防除方法の確立についてせまることを目的とした。第一章では，まず飼育したカレイ類の形態異常の特徴を明らかにするため，8種のカレイ科魚類について体各部を観察し，検討を加えた。第二章では，白化魚を誘発する効果のあるブラジル産アルテミアをマガレイとホシガレイに与え，白化魚の発現に重要な時期を推察した。第三章では，成長・発育速度の異なるマガレイ，ホシガレイ，ババガレイの3種類を様々な水温で飼育し，形態異常魚の出現状況と仔稚魚の成長・発育との関係について考察した。第四章では，飼育したホシガレイとマガレイの仔魚を用いて，甲状腺ホルモンが飼育水温によってどのような動態を示すか明らかにした。第五章では，これらの結果をとりまとめ，カレイ科魚類における形態異常の発現機序とその防除について総合的な考察を行うと共に，今後に残された研究課題について論述した。

第1章　飼育したカレイ科魚類の変態に関わる形態異常

緒言で述べたように，カレイ科魚類を飼育した場合，多くの種において形態異常魚が50%以上の高率で出現し，種苗生産の現場で大きな問題となっている。本章では，カレイ科魚類8種について有眼側，無眼側の諸形質を測定・観察し，天然魚と比較することにより形態異常魚の特徴を明らかにした。

材料と方法

供試魚の由来

本研究では，マツカワ，ホシガレイ，ババガレイ，イシガレイ，ヌマガレイ *Platichthys stellatus*，マガレイ，クロガシラガレイ，マコガレイ，計8種類の飼育魚および天然魚を使用した（Table 1-1）。

飼育魚は1987～2002年に，北海道立栽培漁業総合センター（マツカワ），北海道別海漁協ニシン種苗センター（クロガシラガレイ），日栽協宮古事業場（ホシガレイ，イシガレイ，ヌマガレイ，マコガレイ），同能登島事業場（ババガレイ，マガレイ）で，それぞれ卵から変態完了直後まで飼育した後に供試魚を採取した。ホシガレイとマツカワは鱗について観察を行うため，全長約10cmの個体もあわせて使用した。

天然魚は，ホシガレイが1997年に岩手県大船渡の定置網で，マガレイが1990年に新潟県岩船の底引き網で漁獲された個体を用いた。

供試魚は10%ホルマリンで固定後，70%エタノール中で保存した。

飼育魚における形態異常のタイプ分け

飼育魚については測定および観察に先立って，Norman (1934) をもとに体両側の黒色色素と眼位によって次の4タイプに分類した（Figs. 1-1～1-8）。

タイプA（正常魚）

眼位：有眼側の眼はほとんど動いていない。無眼側の眼は大きく動き，有眼側へ移動している。

体色：有眼側の黒色色素は全体に良く発現し，天然魚と同様の紋様を形成する。無眼側の黒色色素は全体に発現することはなく，全くないか，部分的にのみ存在する。

タイプBおよびB′（白化魚）

眼位：有眼側の眼はほとんど動いていない（タイプB）か大きく無眼側へ動く（タイプB′）。無眼側の眼は大きく有眼側へ動く。

体色：黒色色素は両側とも全く発現しないか，部分的にのみ存在する。

タイプC（両面有色魚）

眼位：眼は両側ともほとんど移動しない。

体色：黒色色素は両側とも全体に良く発現し，天然魚と同様の紋様を形成する。

測定および観察

左右の不相称を定量的・定性的に明らかにするため，各魚種の両側の測定および観察を行った（Table 1-1）。

1)　測定　Table 1-1に示すように測定項目は異なるが，標準体長（以降体長），頭長，有眼側および無眼側の前上顎骨長あるいは上顎長，胸鰭長の計6部位を測定した。前上顎骨および上顎長は頭長との相対比（%，PML；前上顎骨およびUJL；上顎），胸鰭長は体長との相対比（%，PFL）を算出した。

これら相対比の差の有無を確認するため，前述のタイプ群ごとに平均値を求め2群間では t 検定を，2群以上では，山田・北田（1997）に従って等分散性を確認した後，Tukey-Kramerの多重範囲検定法を用いて有意差の検定を行った（$P<0.05$）。

なお，マガレイの胸鰭は着底直後の体長8mm前後に収縮した後，およそ30mmで再び伸長するため，30mm以上の個体についてのみ比較検討を行った。前上顎骨長は，河村・細谷（1991）に従い水酸化カリウム溶液を用いて透明化した後，アリザリンレッドSで硬骨染色後測定した。

2)　観察　マツカワとホシガレイは鱗，その他の6魚種は両顎歯の形態を観察し，タイプごとに比較した。

鱗は，アリザリンレッドSを少量溶かした5% KOH溶液に標本を15分浸漬した後，体両側の側線湾曲部直上からおよそ10枚ずつの鱗を採集し顕微鏡下で観察した。

両顎歯は，有眼側および無眼側から実態顕微鏡で観察を行った。

結果

天然魚における有眼側，無眼側の形質

1)　体色　両種とも有眼側は黒色色素で覆われ，種に特有の斑紋を形成した（Fig. 1-9）。マガレイの無眼側には黒色色素が観察されなかった。ホシガレイでは無眼側に，小斑の散在する個体も見られた。

2)　眼位　両種とも有眼側の目はほとんど移動せず，無眼側の目は完全に有眼側へ移動した（Fig. 1-9）。

3)　上顎および胸鰭　マガレイの前上顎骨長比（PML）は，有眼側が11.3±2.2（SD）%，無眼側が19.8±1.7%であった。ホシガレイの上顎長比（UJL）は，有眼側が31.2±1.4%，無眼側が30.4±1.4%であった。

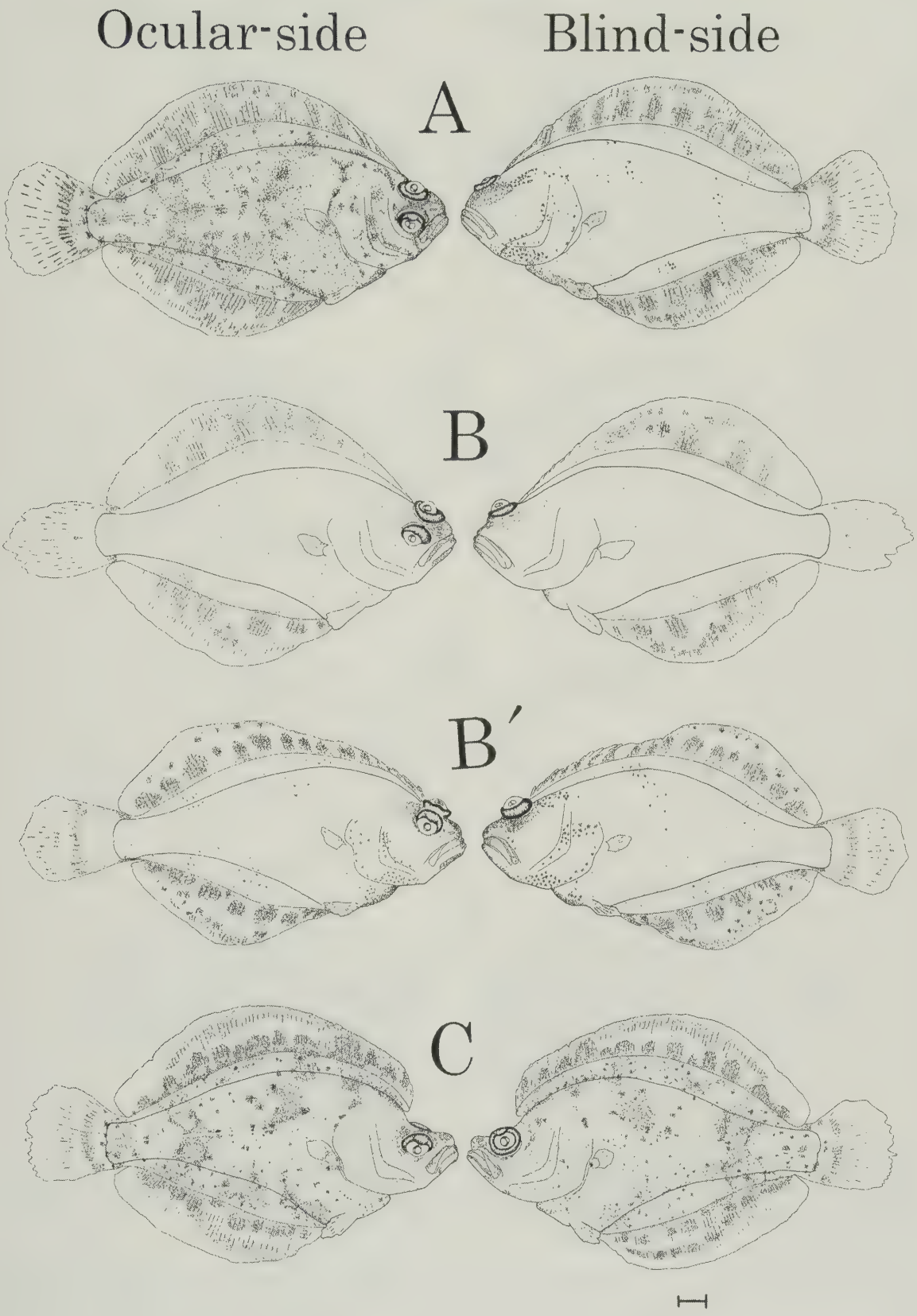


Fig. 1-1. Morphological types in the laboratory-reared *Verasper moseri* juveniles. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

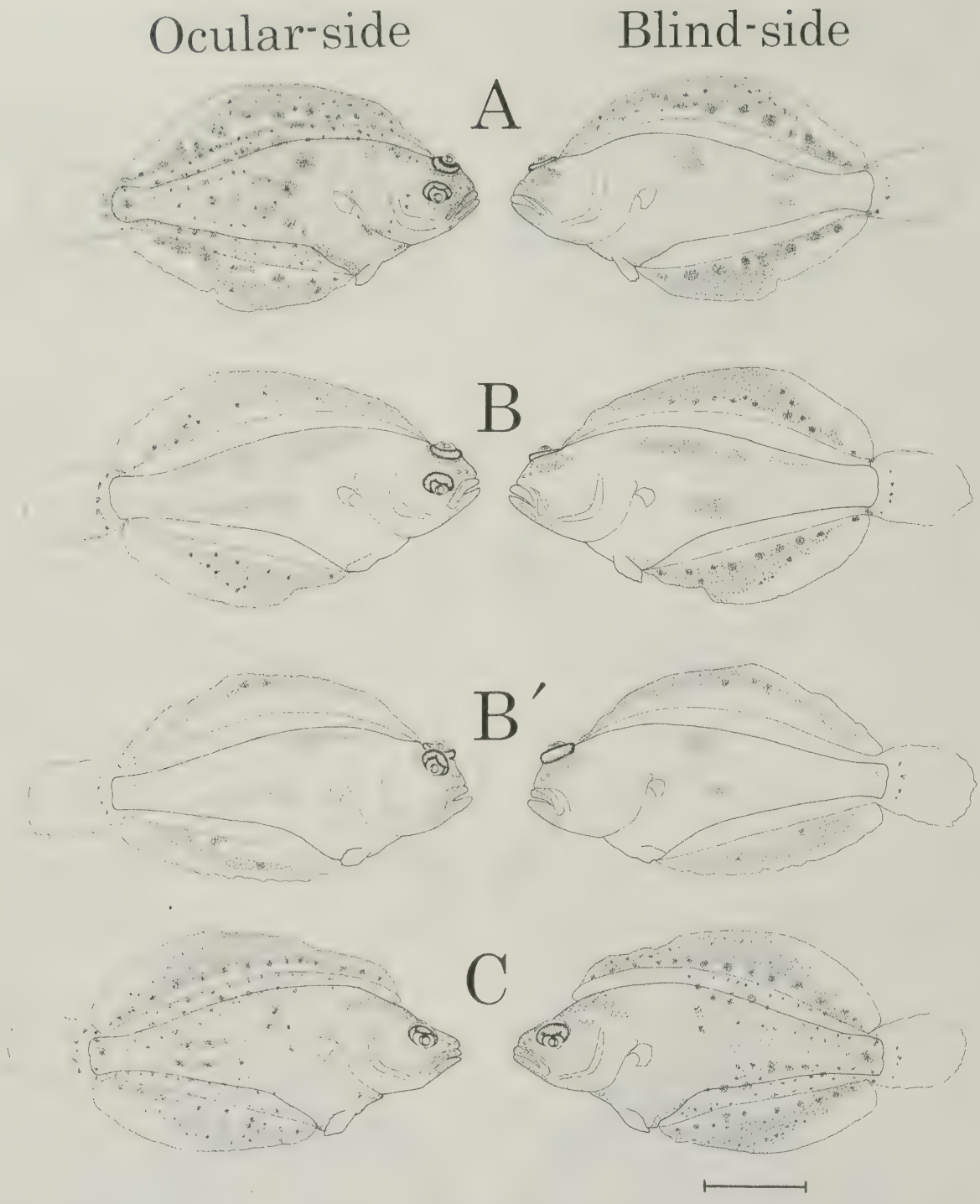


Fig. 1-2. Morphological types in the laboratory-reared *V. variegatus*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

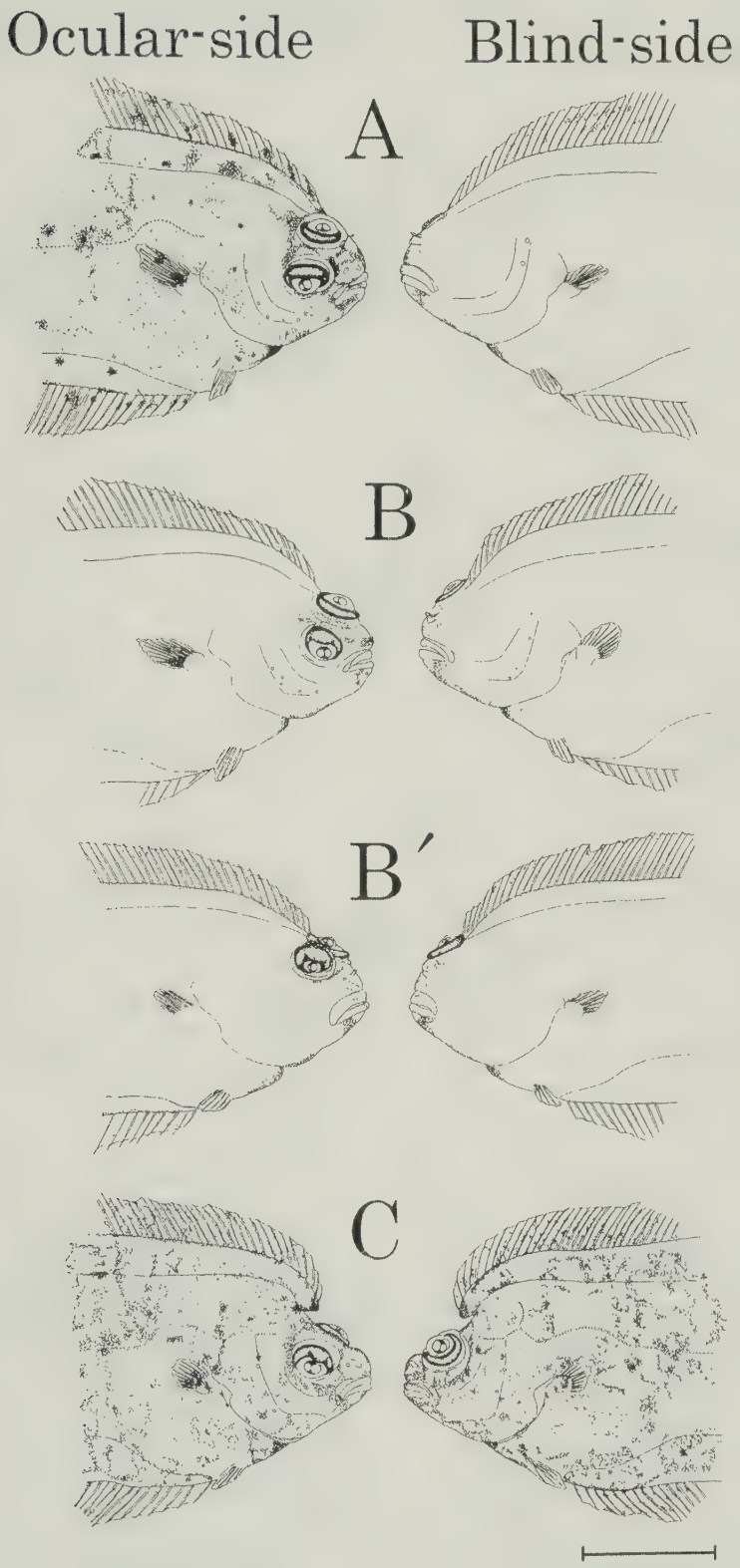


Fig. 1-3. Morphological types in the laboratory-reared *Microstomus achne*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

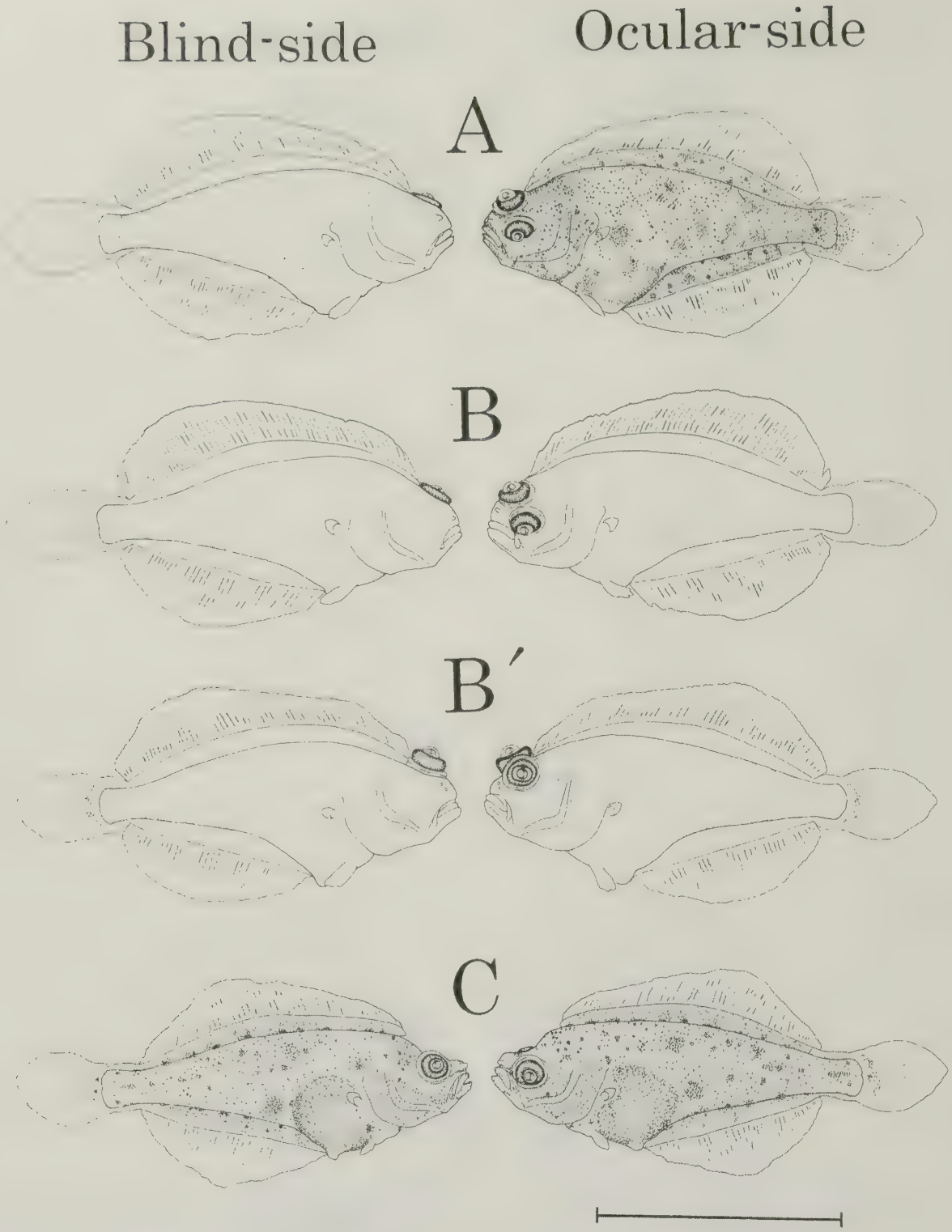


Fig. 1-4. Morphological types in the laboratory-reared *Platichthys stellatus*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

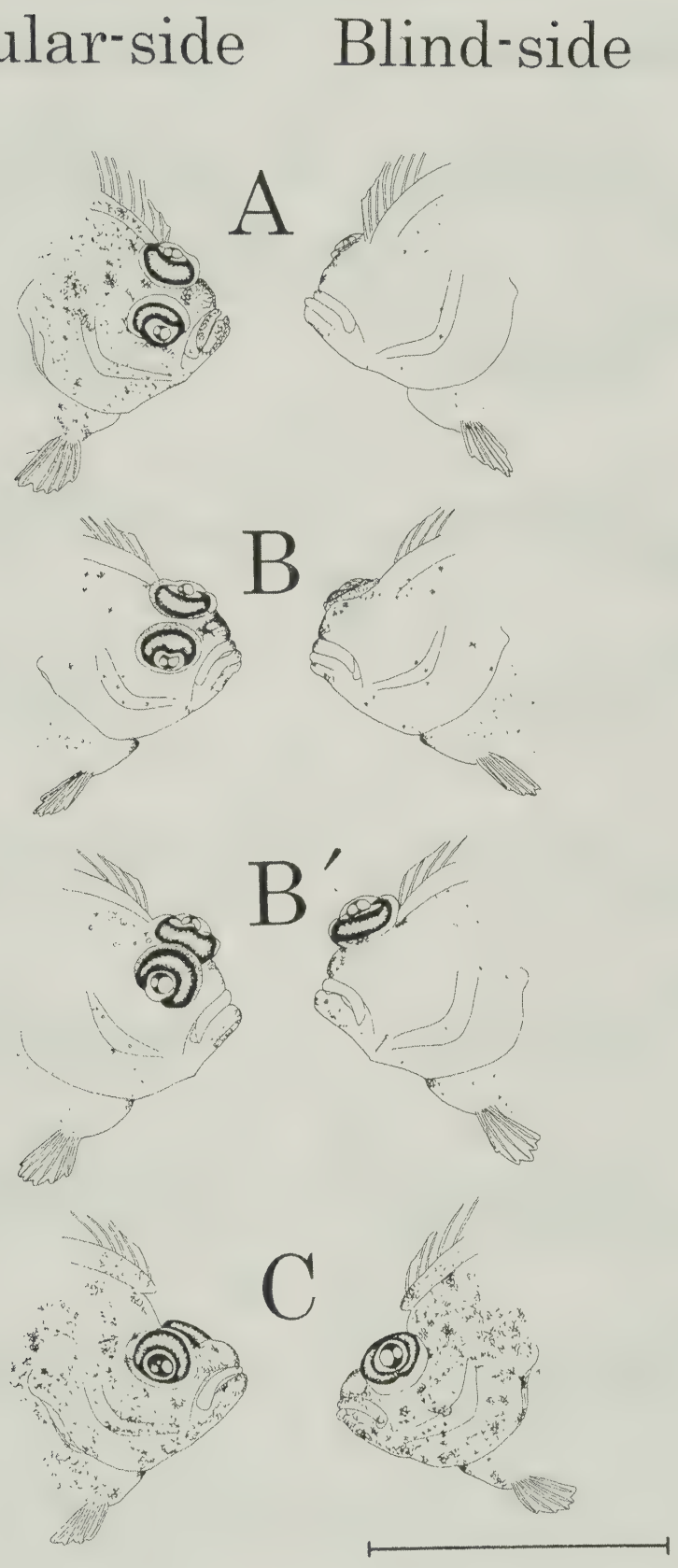


Fig. 1–5. Morphological types in the laboratory-reared *P1. bicoloratus*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

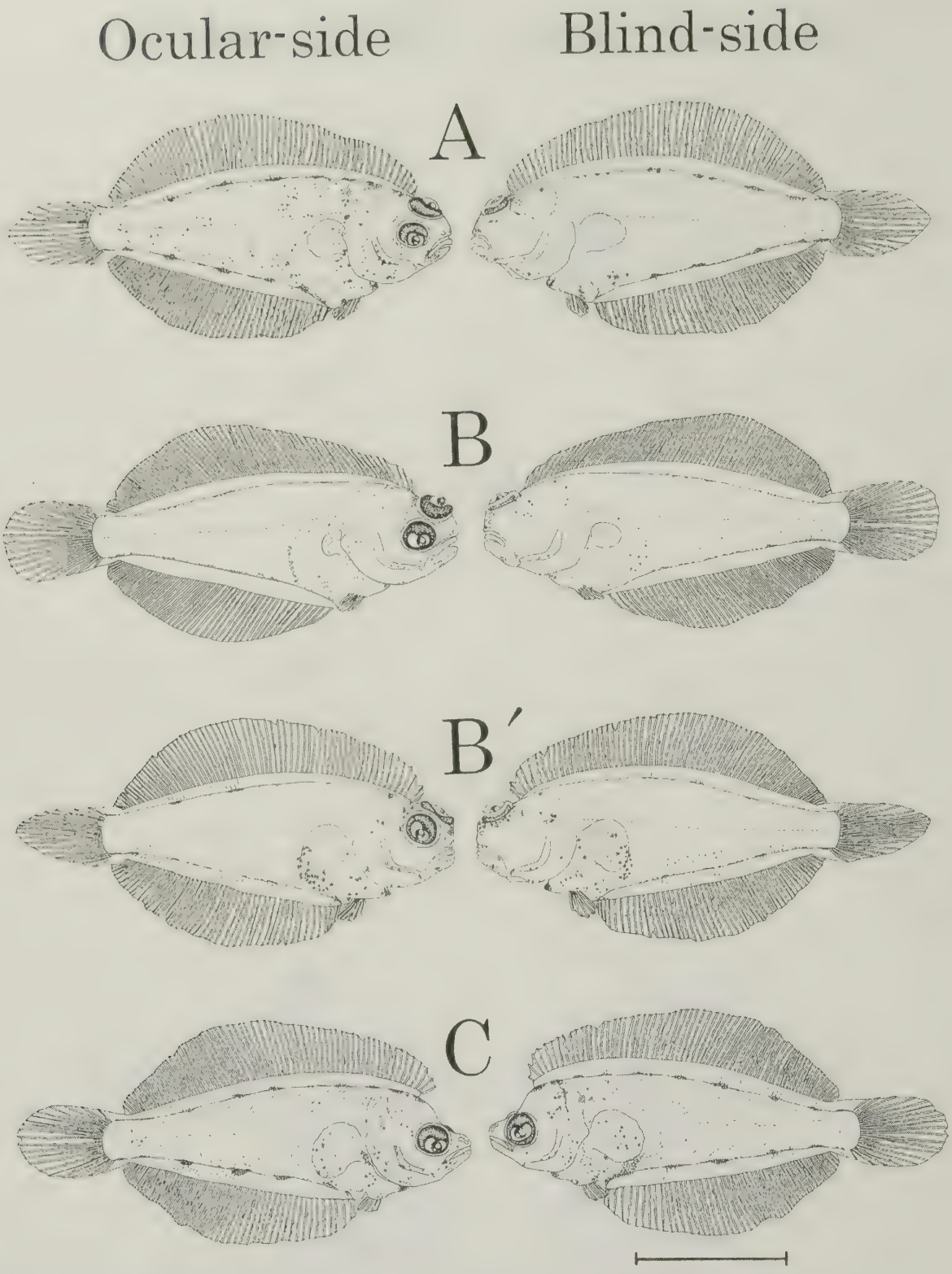


Fig. 1–6. Morphological types in the laboratory-reared *Pseudopleuronectes herzensteini*. Type A is normal. Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

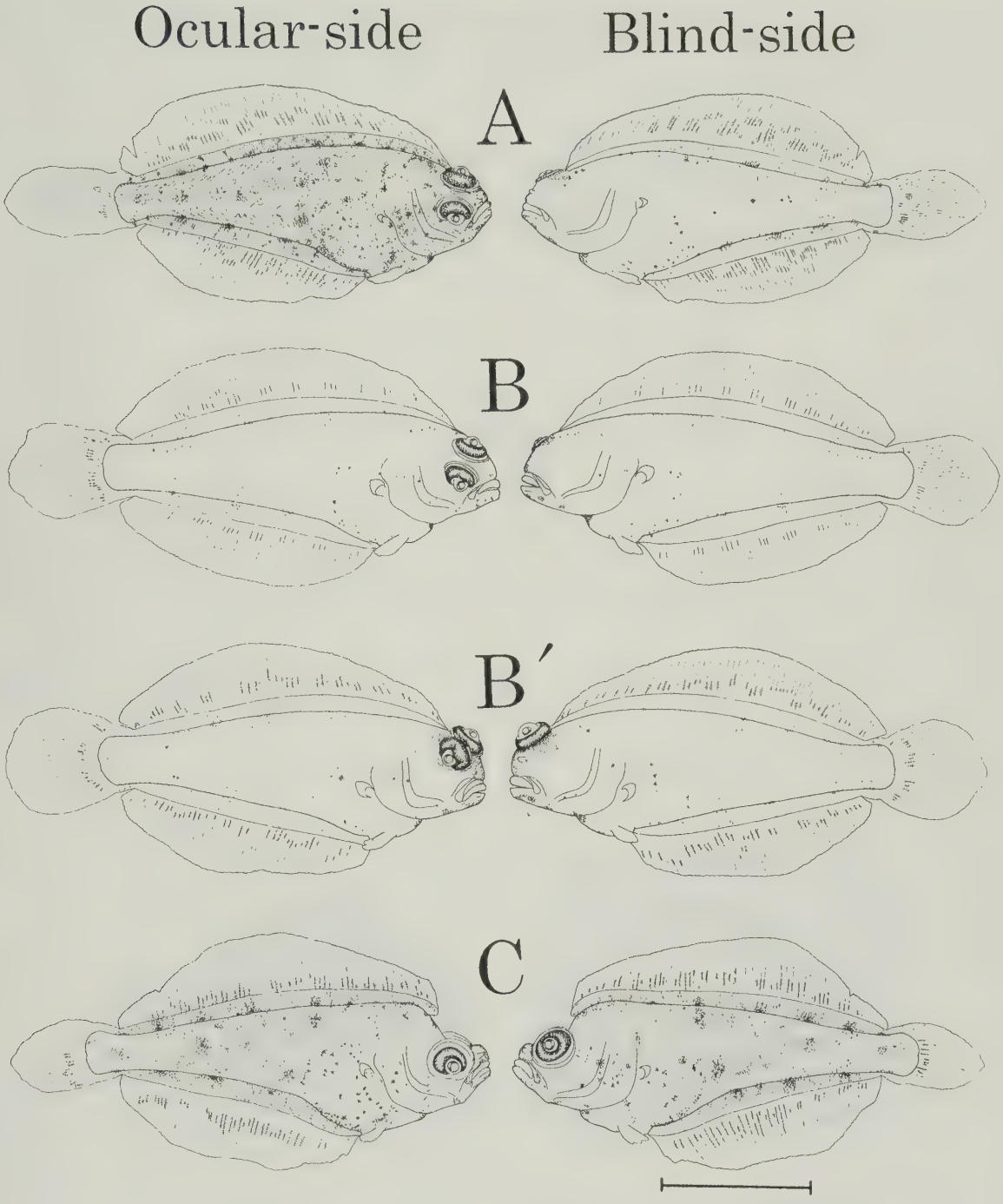


Fig. 1–7. Morphological types in the laboratory-reared *Ps. yokohamae*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

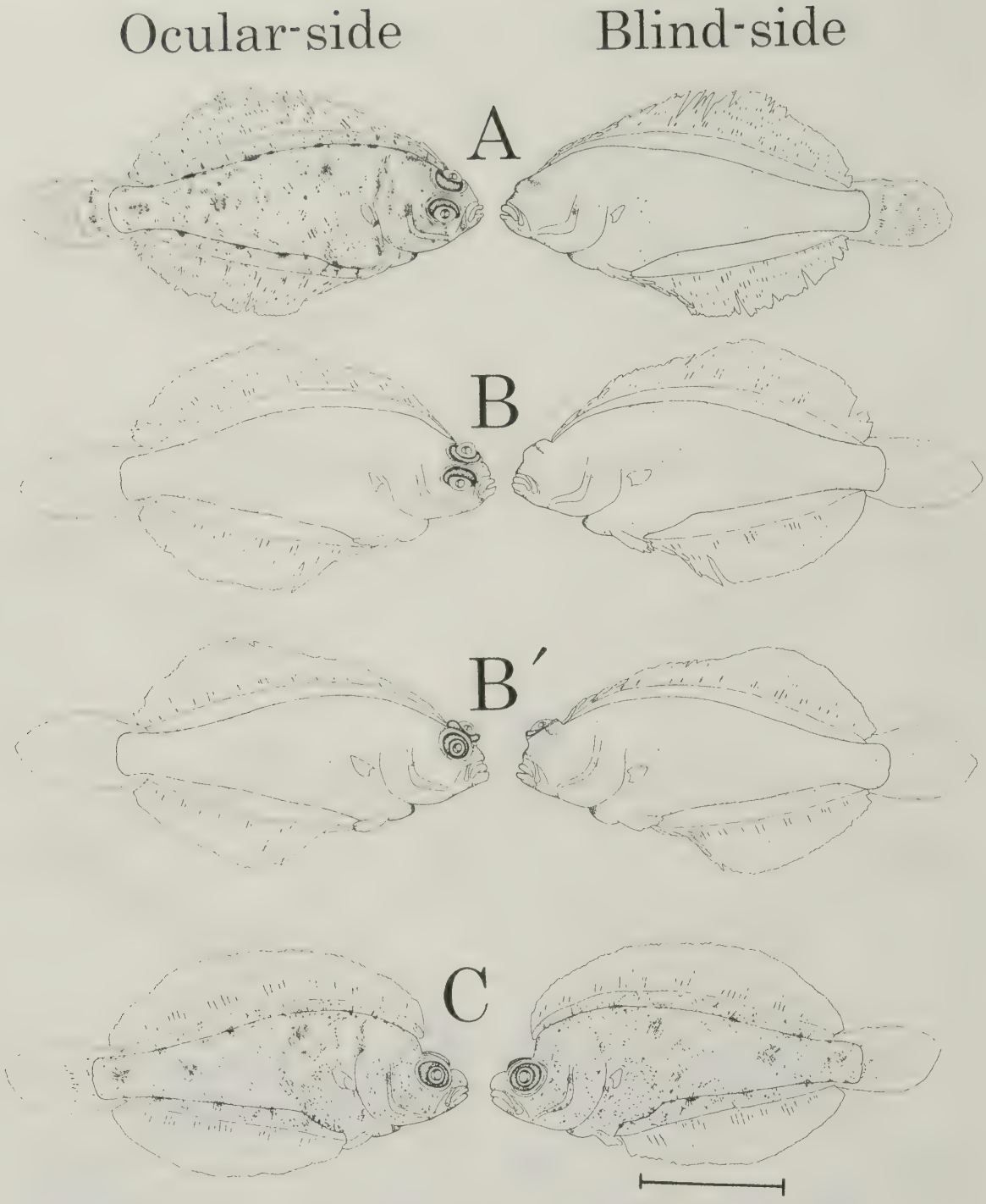


Fig. 1–8. Morphological types in the laboratory-reared *Ps. schrenki*. Type A is normal, Type B (ocular-side eye hardly moved, blind-side eye greatly moved: similar to Type A) and B′ (both eyes greatly moved) are pseudoalbino, and Type C is ambicolorate fish. Bar = 50mm.

Table 1-1. Observed characters and sampling data for 8 species of Pleuronectidae

Species (Japanesae name)	Lot*1	Sampling		No. of fish	Average TL*4 (range) mm	Observed characters						
		Point*2	Year (DAH)*3			Body color	Eye position	UJL*5	PML*6	PFL*7	Dentition	Scale
Verasper moseri (matsukawa)	R	Hokkaido In. Marin.	2002 (160)	50	128.4 (80.4–137.2)	●	●					●
V. variegatus (hosigarei)	W	Iwate	1997	52	459.5 (250.0–689.0)	●	●	●		●		
	R	JASFA Miyako	1997 (370)	394	125.3 (55.0–165.0)	●	●	●		●		●
Microstomus achne (babagarei)	R	JASFA Notojima	1996 (40)	50	28.9 (23.0– 33.8)	●	●				●	
Platichthys bicoloratus (isigarei)	R	JASFA Miyako	1987 (90)	50	13.7 (12.1– 17.1)	●	●				●	
Pl. stellatus (numagarei)	R	JASFA Miyako	2000 (30)	50	11.7 (8.7– 13.9)	●	●				●	
Pseudopleuronectes herzensteini (magarei)	W	Niigata	1990	34	97.5 (80.8–109.0)	●	●		●	●		
	R	JASFA Notojima	1991, 1992	199	39.3 (10.1–103.5)	●	●		●	●	●	
Ps. schrenki (kurogashiragarei)	R	Hokkaido Bekkai Ha.	2002 (55)	50	14.7 (11.7– 18.2)	●	●				●	
Ps. yokohamae (makogarei)	R	JASFA Miyako	2000 (30)	50	14.6 (9.7– 19.4)	●	●				●	

*1 R: reared fish, W: wild fish.
*2 Hokkaido In. Marin.: Hokkaido Institute of Marinculture, JASFA Miyako: Japan Sea-Farming Assosiation Miyako Station, Iwate: Ohofunato Iwate Prefecture, JASFA Notojima: Japan Sea-Farming Assosiation Notojima Station, Niigata: Iwafune Niigata Prefecture, Hokkaido Bekkai Ha.: Bekkai Fishermen's Cooperative Associational Herring Hatchery.
*3 DAH: Days after hatching.
*4 TL: Total length.
*5 UJL: Relative length of upper jaw (% head length).
*6 PML: Relative length of premaxillary (% head length).
*7 PFL: Relative length of pectoral fin (% body length).

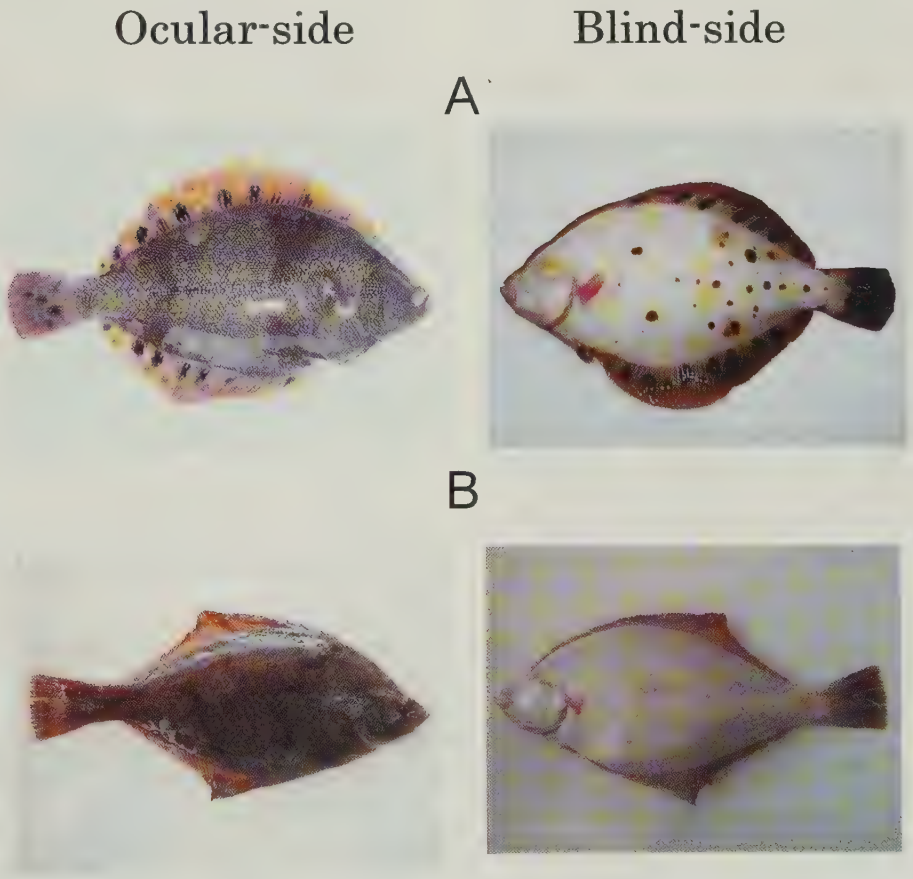


Fig. 1-9. Body color and eye position of wild two right eye flounders. A: *Verasper variegatus*, B: *Pseudopleuronectes herzensteini*.

マガレイは無眼側が，ホシガレイは有眼側が有意に大きかった（Table 1-2）

胸鰭長比（PFL）は，マガレイでは有眼側が14.5±0.9%，無眼側が9.6±0.8%であった。ホシガレイでは有眼側が12.1±1.2%，無眼側が10.1±1.0%であった。両種とも無眼側にくらべて有眼側が有意に大きかった（Table 1-2）

飼育魚4タイプにおける有眼側，無眼側の形質

1） 体色　タイプAの有眼側は，どの種においても全体が黒色色素で覆われており，各魚種特有の斑紋を形成した（Figs. 1-1～1-8）。これに対し，無眼側の黒色色素分布は種によって異なり，全体に薄く散在するもの（マツカワ，ホシガレイ，ヌマガレイ）や眼下，下顎腹面および咽頭部に集群するもの（ババガレイ，イシガレイ，マガレイ，マコガレイ，クロガシラガレイ）に分かれた。しかし，全種とも無眼側は有眼側に比べ黒色色素の発現がきわめて弱く，上記の黒色色素も体長の大きな個体ほど消失する傾向がみられた。タイプBおよびB′では，黒色色素が両側ともほとんど認められなかった。なお，わずかに発現していた個体では，それぞれのタイプAの無眼側に酷似していた。一方，タイプCでは両側とも全域が黒色色素で覆われ，タイプAの有眼側に酷似していた。

2） 眼位　全ての魚種で各タイプの眼位は同様であった（Figs. 1-1～1-8）。タイプAおよびBでは有眼側の眼はほとんど動かなかったが，無眼側では完全に有眼側へ移動した。タイプB′では両側の眼とも大きく背側へ移動し，頭頂部付近で停止した。タイプCでは両側の眼ともほとんど移動しなかった。

3） 上顎骨長比および上顎長比　ホシガレイの上顎長比（UJL）およびマガレイの前上顎骨比（PML）をFig. 1-10に示した。ホシガレイのタイプAでは，有眼側が29.6±1.5%，無眼側が28.3±1.5%で，無眼側が有意に小さかった。しかし，タイプBとB′では有眼側が28.9±1.1%と28.5±1.0%，無眼側が28.2±1.1%と28.2±1.0%で，両タイプとも無眼側が幾分小さい傾向を示したものの，両側間で有意な差は認められなかった。また，これら2種類のタイプとタイプAを比較した場合，無眼側では上顎長比には有意な差はなかったが，有眼側ではタイプAより小さい傾向を示した。一方，タイプCは有眼側では29.3±2.1%，無眼側では29.0±2.1%となり，両側間に有意な差は認められず，両側ともタイプAの有眼側に近似した値をとっていた。

マガレイのタイプAは，有眼側では13.7±1.4%，無眼側では17.5±1.3%で，無眼側が有意に大きかった。しかし，タイプBとB′では有眼側が17.1±1.7%と16.7±2.3%，無眼側が17.4±1.4%と17.1±1.7%で，両タイプとも両側の数値に有意な差はなく，タイプAの無眼側に近似した値を示した。一方，タイプCは有眼側では13.7±0.9%，無眼側では13.5±2.9%となりタイプBとB′同様，両側間に有意な差は認められず，両側ともタイプAの有眼側とほぼ同様であった。

4） 胸鰭長比　ホシガレイおよびマガレイの胸鰭長比（PFL）をFig. 1-11に示した。

ホシガレイのタイプAでは，有眼側が11.8±0.8%，無眼側が10.7±0.6%で有眼側が有意に大きかった。これに対し，タイプBとB′では有眼側が10.7±0.8%と10.9±0.5%，無眼側が10.5±0.7%と10.8±0.6%となり，両タイプとも両側間で有意な差は認められず，タイプAの無眼側に近似した値を示した。タイプCでは，有眼側が11.9±0.8%，無眼側が11.1±0.8%で有意に有眼側が大きかった。タイプCの数値をタイプAと比較すると有眼側の数値は両者とも有意差がなかったものの，無眼側ではタイプCの値が有意にタイプAより大きかった。

マガレイでは形質が安定する30mm以上の個体について胸鰭長比の比較検討を行ったが，タイプCは全ての個体が30mm以下であったため検討できなかった。

タイプAでは，有眼側が15.2±1.0%，無眼側が9.1±0.7%で有眼側が有意に大きかった。これに対し，タイプBとB′では有眼側が14.5±1.1%と11.8±1.0%，無眼側では9.3±0.8%と9.7±1.0%となり，両タイプとも両側間で有意な差が認められた。このうちタイプB，B′とタイプAの無眼側およびタイプBとタイプA

Table 1-2. Comparison of relative length of upper jaw, premaxillary, and pectoral fin in wild brown sole *Pseudoleuronectes herzensteini* and spotted halibut *Verasper variegatus*.

Species	Head length Mean and SD (mm)	Standard length Mean and SD (mm)	Relative length of UJL[*1] and PML[*2] (% HL[*3]) Mean and SD		Relative length of PFL[*4] (% BL[*5]) Mean and SD	
			ocular side	blind side	ocular side	blind side
P. herzensteini	25.4± 1.6	97.5± 5.7	11.3±2.2[a]	19.8±1.7[b]	14.5±0.9[A]	9.6±0.8[B]
V. variegatus	95.9±20.8	390.5±81.4	31.2±1.4[a]	30.4±1.4[b]	12.1±1.2[A]	10.1±1.0[B]

*1 UJL: upper jaw length, *2 PML: premaxillary length, *3 HL: head length, *4 PFL: pectoral fin length, *5 BL: body length.
Different superscript letters indicate significant difference (T-test, $P < 0.05$) between ocular side and blind side.

の有眼側の間では有意な差が認められなかったが，タイプB′の有眼側はタイプAおよびBより有意に小さく，値はタイプA＞B＞B′の順に減少した。

5) 両顎歯 全ての魚種においてタイプAの無眼側では顎歯が密在したが，有眼側では疎にしか存在しなかった（Figs. 1-12～1-17）。これに対し，タイプBとB′では顎歯が両側とも密在し，タイプCでは両側とも疎にしか存在しなかった。

6) 鱗 マツカワ（Fig. 1-18），ホシガレイ（Fig. 1-19）ともタイプAの鱗は有眼側が櫛鱗，無眼側が円鱗であったのに対し，タイプBとB′は両側とも円鱗，タイプCは両側とも櫛鱗であった。

考察

天然魚の左右不相称

前章でも述べたように，異体類の左右不相称は多様な器官におよぶ（Norman, 1934；Amaoka, 1964；落合, 1966; 加藤ら, 1974; 沖山, 1974；置栖・遊佐, 1979; Sakamoto, 1984; Brewster, 1987; Bürgin, 1986; 北島ら, 1987；Cooper and Chapleau, 1998）。ホシガレイの左右不相称に関しては，Norman (1934) が体色，眼位，鱗について記載しているが，その他の形質については記載がなかった。今回，天然海域で漁獲された個体の上顎長と胸鰭長について測定した結果，この2形質についても両側で不相称が確認された（Fig. 1-9A, Tables 1-2, 1-3）。一方，マガレイは，体色，眼位，上顎長，鱗の形状（Norman, 1934），胸鰭長（加藤ら, 1974），両顎歯数（Norman, 1934；加藤ら, 1974；置栖・遊佐, 1979）に左右の不相称があると報告されている。本研究の結果でも，マガレイ天然魚の体色や眼位，前上顎骨長，胸鰭長は過去の知見と同様に，有眼側と無眼側で明らかな差異が認められた（Fig. 1-9B, Table 1-2）。

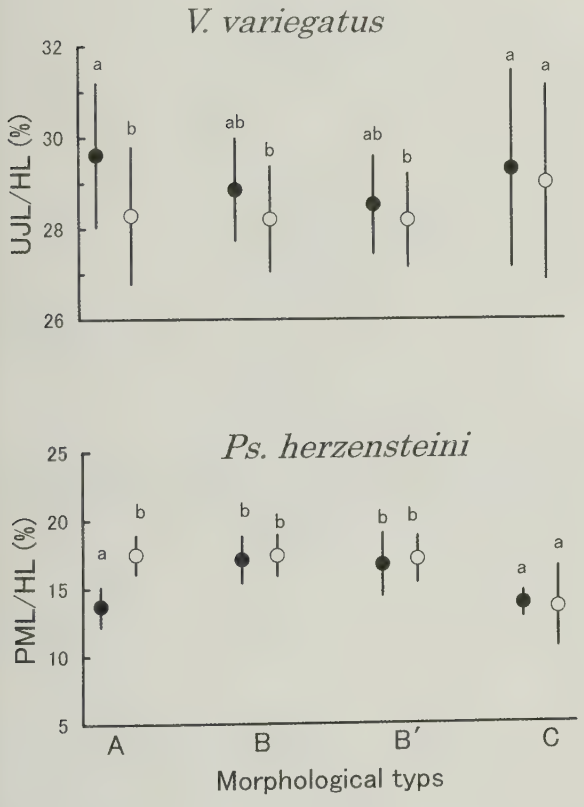


Fig. 1-10. Relative length of UJL and PML (% HL) in each type of *Verasper variegatus and Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles. UJL: upper jaw length, PML: premaxillary length, HL: head length, ●: ocular-side, ○: blind-side. Different superscript letters indicate significant difference (T-test, $P < 0.05$) between ocular side and blind side.

Fig. 1-11. Relative length of PFL (% BL) in each type of *Verasper variegatus and Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles. PFL: pectoral fin length, BL: body length ●: ocular-side, ○: blind-side. Different superscript letters indicate significant difference (T-test, $P < 0.05$) between ocular side and blind side.

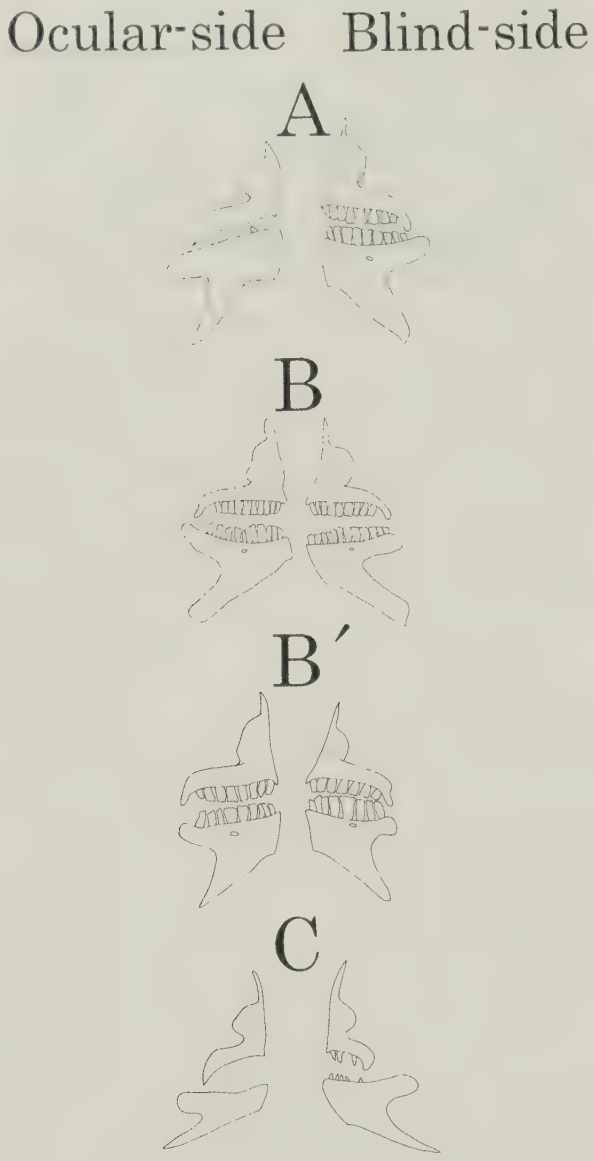


Fig. 1–12. Jaws in each type of *Microstomus achne* juveniles.

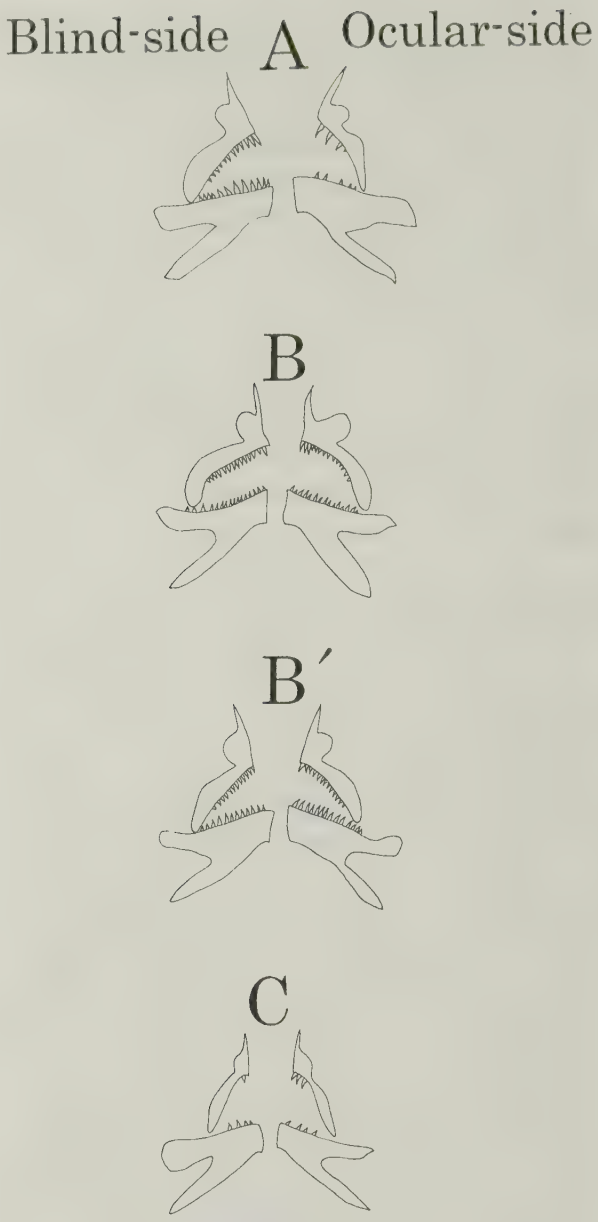


Fig. 1–13. Jaws in each type of *Platichthys stellatus* juveniles.

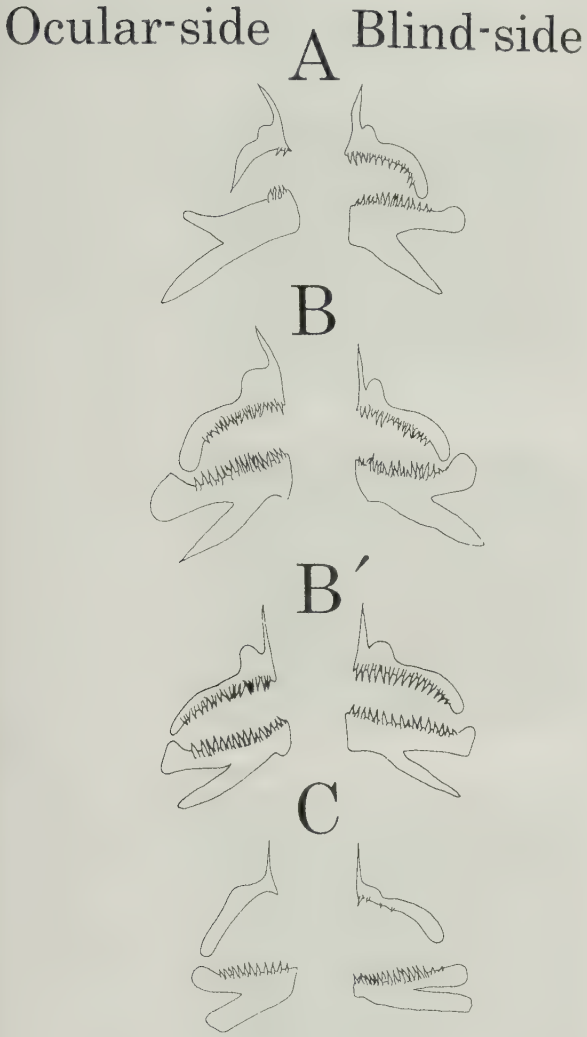


Fig. 1-14. Jaws in each type of *P1. bicoloratus juveniles*.

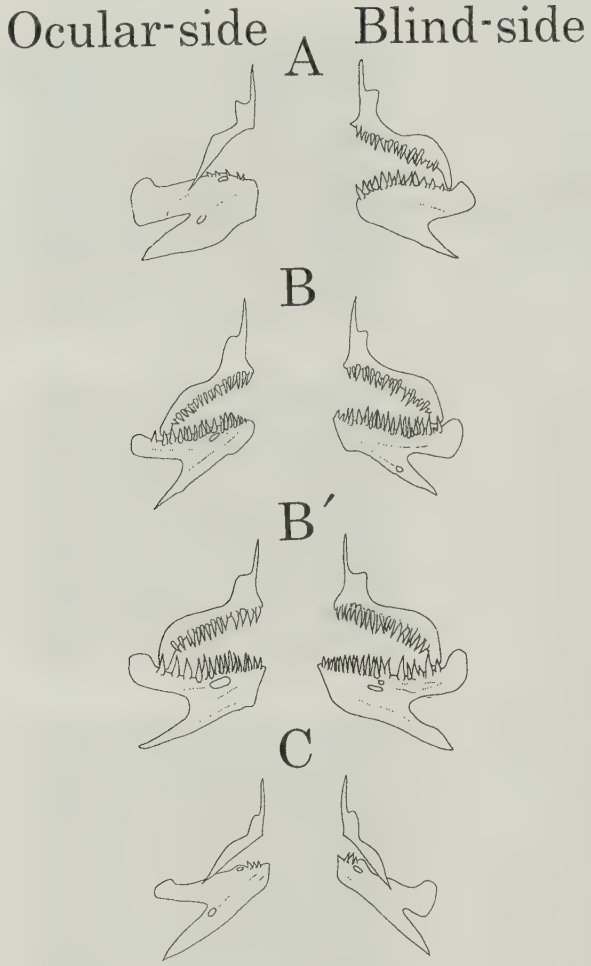


Fig. 1-15. Jaws in each type of *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles.

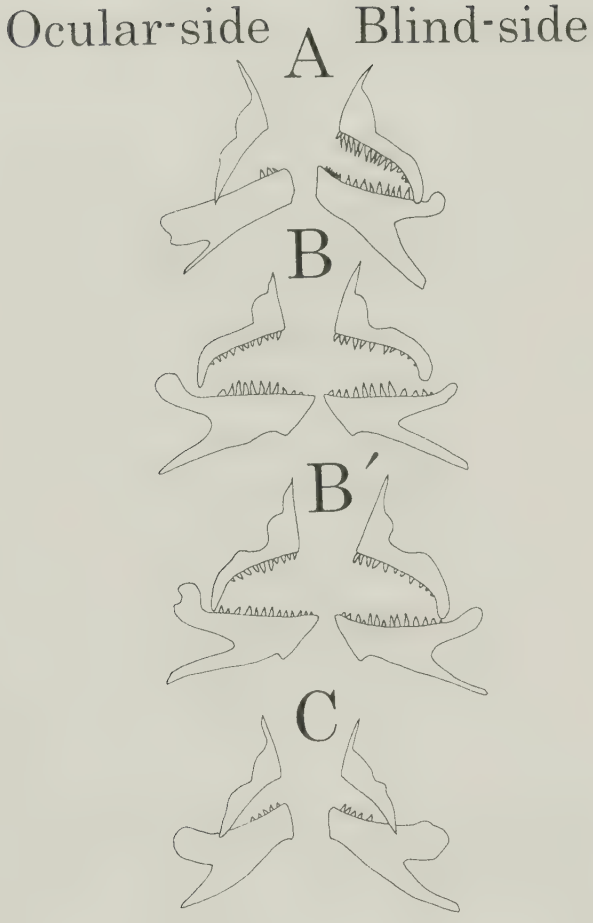


Fig. 1–16. Jaws in each type of *Ps. yokohamae juveniles.*

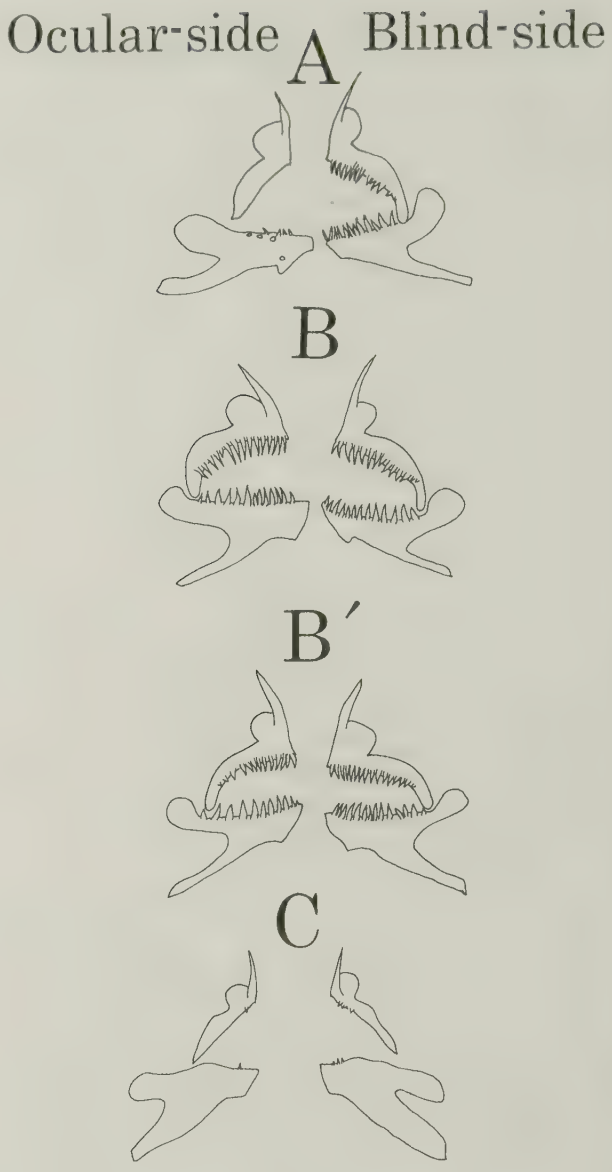


Fig. 1–17. Jaws in each type of *Ps. schrenki juveniles.*

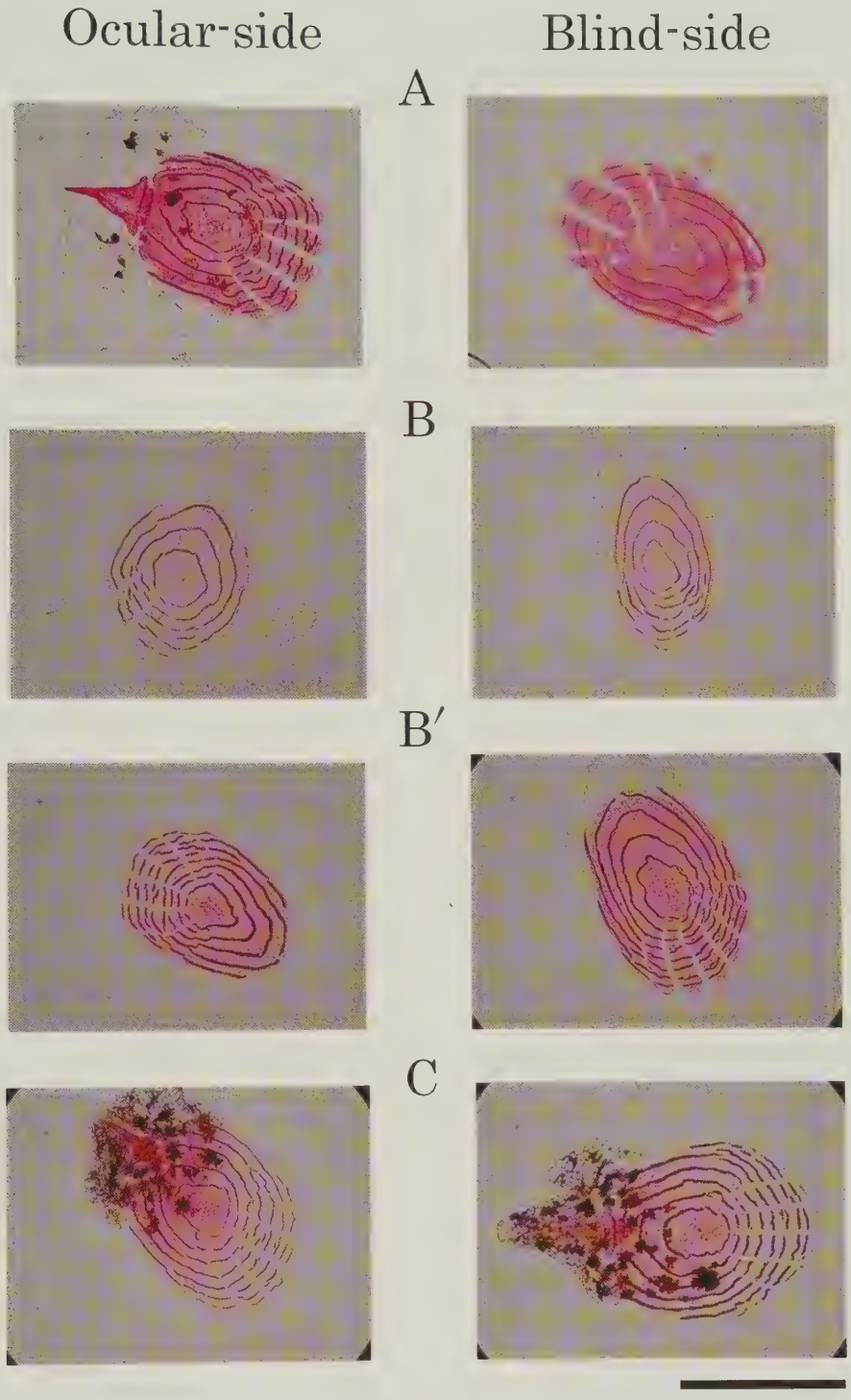


Fig. 1-18. Scale in each type of *Verasper moseri* juveniles. Bar = 0.5mm.

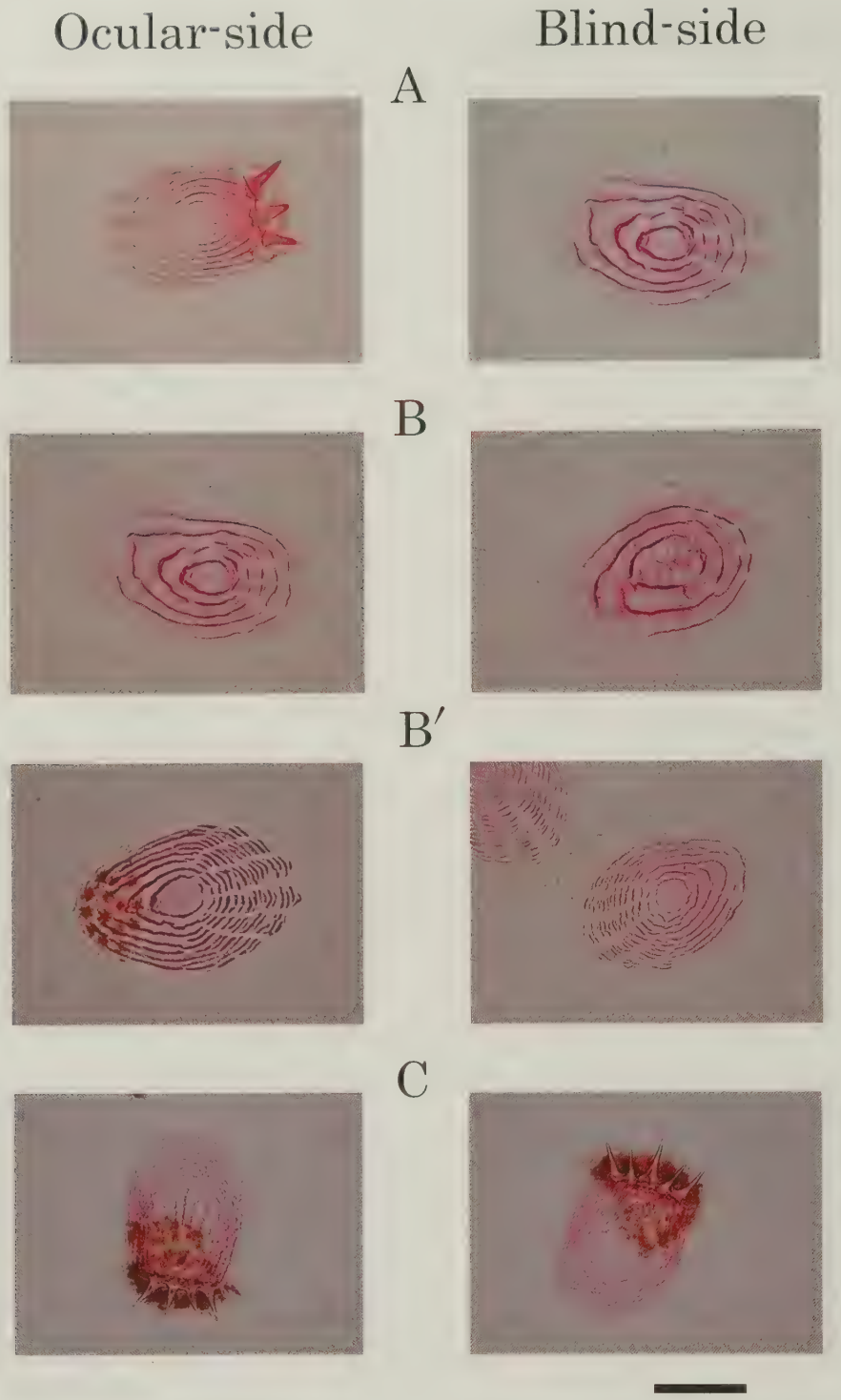


Fig. 1–19. Scale in each type of *V. variegatus* juveniles. Bar = 0.5mm.

Table 1-3. Possible asymmetrical characters in wild fish of 8 Pleuronectidae species

Species	Body color *4	Eye position *5	UJL *6	PFL *7	Dentition *8	Scale *9
Verasper moseri *1, 2	●	●	?	●	−	●
V. variegatus *1, 2, 3	●	●	●	?	−	●
Microstomus achne *1, 2	●	●	●	?	●	−
Platichthys bicoloratus *1, 2	●	●	●	?	●	−
Pl. stellatus *1, 2	●	●	●	?	●	−
Pseudopleuronectes herzensteini *1, 2, 3	●	●	●	●	●	●
Ps. schrenki *1, 2	●	●	●	?	●	?
Ps. yokohamae *1, 2	●	●	●	?	●	−

* 1 Norman (1934).
* 2 Cooper and Chapleau (1998).
* 3 present study.
* 4 The ocular-side is dark color . the blind-side is white color.
* 5 The ocular-side position hardly moved, blind-side position migrated to the other side.
* 6 The upper jaw of ocular-side is shorter than blind-side .
* 7 The pectoral fin of ocular-side is longer than blind-side .
* 8 The number of teeth on blind-side is more than ocular-side .
* 9 The scale on ocular-side is ctenoid, and that on blind-side is cycloid.
●: asymmetrical, ?: unknown, −: symmetrical.

Table 1-3に本研究で観察した2種を含む8種のカレイ科魚類天然魚における形質の左右不相称性をまとめた。これらの形質は，種によって左右不相称性に差異が認められるものの，今回飼育魚で観察した形質は全て不相称であることが確認できた（Tables 1-1, 1-3）。

飼育魚の左右不相称と形態異常

Table 1-4に飼育魚の測定・観察結果をまとめた。

正常魚であるタイプAは，全魚種，全形質において両側とも天然魚と同様の傾向が認められた。このことからタイプAでは眼位や体色などの全体的な外見のみならず，顎歯や上顎などの頭部形態や胸鰭，鱗も天然魚と同様であると推察される。白化魚であるタイプBとB′では無眼側がタイプAと同様，全形質で天然魚と同様の傾向が確認された。一方，タイプBの有眼側では眼位（全種）や一部の胸鰭長（マガレイ）および上顎長（ホシガレイ）を除いた18形質が，タイプB′ではホシガレイの上顎長を除く27形質が天然魚の無眼側に類似した。両面有色魚であるタイプCは，ホシガレイの無眼側胸鰭長を除く全形質で左右とも天然魚の有眼側と同じ傾向が認められた。

今回，観察したカレイ科魚類は，8魚種全てで正常魚，白化魚（2タイプ），両面有色魚の4タイプに区分することが可能であった。また，白化および両面有色は，どの魚種でも両側とも無眼側もしくは有眼側，どちらか一方の形質を有していた。これらの結果は，飼育したカレイ科魚類に多発する形態異常は白化が“両側の無眼側化”，両面有色が“両側の有眼側化”現象であることを強く示唆している。

本研究で観察した魚種の他にも飼育したヒラメ（青海, 1979b；Seikai *et al.*, 1987b; Seikai, 1992）や plaice（Roberts, 1971）とササウシノシタ *Heteromycteris japonica*（青海, 1990）では白化魚の有眼側の鱗や色素細胞，頭部器官の形態が無眼側に類似していることが，また *Acbirus lineatus*（Houde, 1971）やメイタガレイ（北島ら，1987）の両面有色魚では，体幅，眼位や体色，無眼側胸鰭の有無などが天然魚の有眼側と同様であることが報告されている。これらのことは，前述してきた飼育したカレイ科魚類に生ずる“両側の無眼側化”および“両側の有眼側化”は他の異体類にも広く発現する可能性を示している。

本研究では，両体側の形質の比較から白化魚のうちタイプB′は両側の無眼側化であることが示されたが，タイプBでは全魚種の眼位とマガレイの胸鰭長には有眼側の無眼側化現象が認められなかった。早乙女・有瀧（1988）によると，マガレイで両側の目が移動する形態異常（本研究のタイプB′）では，目の移動角度のばらつきが大きく，眼位が正常と判断された個体（同タイプA，B）の値と一部重なる。本研究でも上記の知見と同様に，各魚種のタイプB′では眼の移動がごく軽微なものから重度のものまで観察された。また，マガレイ有眼側の胸鰭長比は，タイプA＞タイプB＞タイプB′と連続して減少しており（Fig. 1-11），眼位と同じ傾向が確認できた。本観察では，眼の移動位置で

Table 1-4. Morphological characters for 8 species of laboratory-reared Pleuronectidae

Species	Characters	Type A		Type B		Type B′		Type C	
		Ocular side	Blind side	Ocular side	Blind side	Ocular side	Blind side	Ocular side	Blind side
V. moseri	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Scale	●	○	○	○	○	○	●	●
V. variegatus	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	UJL[*1]	●	○	△	○	△	○	●	●
	PFL[*2]	●	○	○	○	○	○	●	△
	Scale	●	○	○	○	○	○	●	●
M. achne	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
Pl. bicoloratus	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
Pl. stellatus	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
Ps. herzensteini	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	PML[*3]	●	○	○	○	○	○	●	●
	PFL	●	○	●	○	○	○	×	×
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
Ps. schrenki	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●
Ps. yokohamae	Body color	●	○	○	○	○	○	●	●
	Eye position	●	○	●	○	○	○	●	●
	Dentition	●	○	○	○	○	○	●	●

*1 upper jaw length, *2 pectoral fin length, *3 premaxillary length.
●: similar to the ocular side of wild fish, ○: similar to the blind side of wild fish,
△: intermediate between ocular and blind side of wild fish, ×: no information.

白化魚のタイプBとタイプB′を区分したが，これら2タイプは無眼側化の程度の差であり，その程度の軽い現象がタイプB，より進んだものがタイプB′である可能性が高い。

形態異常の観察時期

観察した8種では，有眼側の部分的な白化（partial albino）は形態異常魚にも全く観察されなかったが，過去には多くの異体類で報告されている（Norman, 1934; Dawson, 1962; Dawson, 1967; Veen, 1969; Bolker and Hill, 2000）。青海（1991, 1997）はヒラメにおける無眼側の体色異常が主に着色型（Norman, 1934）であり，着底以降発現すると述べている。本節では，飼育したカレイ科魚類の白化現象が両側の無眼側化であることを示したが，このことは白化魚の有眼側が無眼側同様着色により黒化する可能性を示唆している。事実，ヒラメ（青海, 1979a）やマコガレイ（花田・福士, 1973）の白化魚では着底後成長と共に有眼側に黒色色素が発現し，白化が部分的になることが観察されている。前述した既存の知見では，部分白化の観察に用いられた標本の多くが変態完了直後の個体でない。従って，本来は白化魚であった個体の有眼側が成長に伴い部分的に着色した可能性も考えられる。さらに，マガレイの白化魚や両面有色魚は摂餌機能等に問題があるため，着底後の生き残りが正常魚に比べてきわめて低い（長倉・有瀧, 1990）。そのため，本来の形態異常の発生状況を把握するには各タイプの出現率や両側の形質が確定した変態完了直後の個体を用いて比較・検討する必要があろう。

飼育したカレイ科魚類の形態異常とは

変態は，動物界において節足動物や棘皮動物をはじめ様々な分類群で見られるものの，脊椎動物では魚類と両生類に限られる（田中, 1997）。吉里（1990）は変

態を「幼生期の体制と生活様式が急激に変化して，成体の体制と生活様式を生み出す過程」と定義している。魚類の変態に関しては，様々な解釈がなされているが（内田，1963；Youson, 1988; バロン・後藤，1989），概ね仔魚から稚魚への移行期に生態的な転機の準備として体機能と構造に起こる一大転換を指す（Kendall, 1984; 田中，1997）。内田は（1963），魚類の変態をイワシ型，ウナギ型，サバ型，カレイ型に区分し，体各部の左右不相称をカレイ型変態の大きな特徴としてあげている。これらカレイ型変態に伴う左右不相称の発現は，様々な部位で観察されているが（Norman, 1934; Amaoka, 1964; 落合，1966; 加藤ら，1974; 沖山，1974；置栖・遊佐，1979; 青海，1979b；Sakamoto, 1984; Bürgin, 1986；Brewster, 1987；北島ら，1987；Seikai *et al.*, 1987b; 青海，1990；Seikai, 1992；Cooper and Chapleau, 1998），その意義は浮遊生活を送る仔魚期から稚魚期の底生生活への移行に伴って生ずる体構造の総合的な変化（松原ら，1979；岩井，1985；田中，1997），すなわち両側の有眼側，無眼側への分化として捉えることができる。今回，飼育した8種のカレイ科魚類において変態後の両側の形質を観察した結果，白化や両面有色魚で両側の無眼側化および有眼側化が確認された。先に述べたように，カレイ型変態では本来左右の体側が別々に無眼側と有眼側へ分化するものであることから，飼育したカレイ科魚類に生ずる白化や両面有色は変態に関連した異常であると結論づけられる。以上のことから本研究では白化並びに両面有色を“変態異常”と称することを提唱する。

過去の研究では，異体類の白化や両面有色を眼位の異常と体色の異常に区分して捉えることが多かったが（杉山ら，1985；北島ら，1987；睦谷，1988；早乙女・有瀧，1988），変態は体構造の組み替えであるから，これに伴う変態異常は各部が連動する，全身の現象として捉えることがきわめて重要であろう。

第2章　飼育したカレイ科魚類における変態異常発現の決定時期

変態異常を防除するには，どの発育段階が変態異常発現に関与しているかを解明することがきわめて重要である。異体類の中で，変態異常に関する試験・研究が先行して行われているヒラメでは，ブラジル産のアルテミアを給餌することにより，ほぼ全ての魚が白化魚になることが明らかにされている（Seikai *et al.*, 1985a）。青海ら（1987c）はこの結果を基に，本種の白化の発現に関わる時期を検討し，変態直前の発育ステージが最も感受性の高いことを明らかにした。

本章では，マガレイとホシガレイをモデルとしてブラジル産アルテミアの給餌開始時期を変えて飼育を行い，白化魚の出現状況からカレイ科魚類における変態異常の決定時期を検討した。

材料と方法

供試魚および試験区の設定

1）マガレイ　1995年に日栽協能登島事業場で試験を行った（試験1）。試験には，天然親魚を用いた自然産卵により採卵を行い，ふ化した仔魚を使用した。ふ化までの受精卵は採卵後9℃を目安に調温した水槽で3日間管理した。マガレイはおよそ全長5 mm 以降アルテミアの摂餌が可能となるため，北米（ユタ）産アルテミア（UA）を5 mm から給餌する対照区の他に，ブラジル産アルテミア（BA）を全長5～9 mm の間の5段階で給餌開始する，5試験区を設けた（Table 2-1, Fig. 2-1）。

2）ホシガレイ　2000年に日栽協宮古事業場で試験を行った（試験2）。試験には，天然親魚を用いた人工授精により採卵を行い，ふ化した仔魚を使用した。ふ化までの受精卵は，8℃を目安に調温した水槽で10日間管理した。試験区の設定はマガレイと同様であるが，アルテミアの摂餌が可能となる全長7 mm 以降に給餌サイズを設定し，UA のみを給餌する対照区の他に BA を全長7～22mm のまでの間の5段階で給餌する5試

Table 2-1. Outline of the rearing experiments for *Pseudopleuronectes herzensteini* and *Verasper variegatus* in chapter II

Lot no.	Species	Target size began to feed on BA[*1] TL[*2] mm	Method of fertilization	Beginning of experiment	Initial density of larvae (ind./KL)	Initial larval size Mean of TL[*2] (SD) mm	Number of replicate
Exp.1	*Ps. herzensteini*	5, 6, 7, 8, 9	Natural spawning	18 Jan. 1995	10000	3.3 (0.98)	2
Exp.2	*V. variegatus*	7, 10, 13, 16, 19	Artificial fertilization	21 Feb. 2000	10000	5.1 (0.15)	2

*1 BA: *Artemia* nauplii of Brazil strain.
*2 TL: Total length.

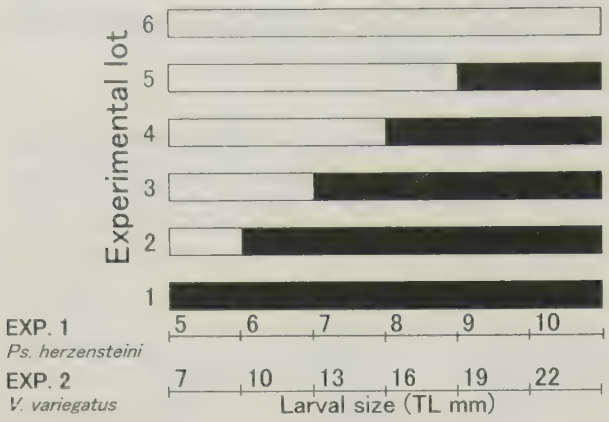


Fig. 2-1. Feeding schedule of *Artemia* nauplii applied for Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegates*) during rearing period. ■ : Brazilian strain *Artemia* nauplii, □ : Utah strain *Artemia* nauplii.

験区を設けた（Table 2-1, Fig. 2-1）。

飼育条件

1） マガレイ ふ化仔魚は0.5kL の円形ポリエチレン水槽に10000尾 /kL の密度で収容し，飼育を開始した。シオミズツボワムシ *Brachionus plicatilis*（ワムシ）およびアルテミア（BA, UA）を餌料として用いた。ワムシは仔魚の開口直後から全長 8 mm まで 3 ～ 5 個体 /mL を維持する量を朝夕与えた。ワムシの栄養強化としてアクアラン（200g/kL, 理研ビタミン kk.）を用い，給餌16時間前に添加した。アルテミアは，10～40万個体の BA と UA を各試験区の設定に従い，1日2回に分けて給餌した。アルテミアは BA, UA とも水槽に収容して24時間後に幼生を分離した。アルテミアの栄養強化としてパワッシュ A（100g/kL, オリエンタル酵母 kk.）を用い，給餌の16時間前に添加した。飼育水には，ナンノクロロプシス *Nannochloropsis oculata* をおよそ150万細胞 /mL になるよう1日2回添加した。飼育水温は18℃を目安に，飼育開始時の 9 ℃から試験の設定水温まで，1℃ / 日の速度で昇温した。仔魚飼育と餌料培養には砂ろ過海水を使用した。飼育開始当初から換水を行い，1日当たりの換水率をワムシ単独投与期には全体の50%，アルテミア投与開始以降には100%，着底開始以降には300%に設定した。飼育開始当初の通気は微量としたが，仔稚魚の成長とともに順次増加した。

2） ホシガレイ 飼育の条件は，アルテミアの栄養強化が，DHAce（150g/kL, オリエンタル酵母 kk.）を用いたことおよび飼育水にはナンノクロロプシスの代替として淡水クロレラ濃縮液（Chlorella sp., フレッシュグリーン，日清サイエンス kk.）を添加したこと以外，マガレイと同様である。

飼育期間中の試料採取と観察

UA から BA への給餌の切りかえ時期を決定するため，2～5日ごとに各飼育水槽から仔魚を採取し，全長の測定を行った。また，UA から BA への給餌切りかえ時には，全ての試験区から無作為に50 ～ 60尾の仔稚魚を採集し，5 %中性ホルマリン溶液で 2 日間固定後，70% エタノールに移して保存した。その後，有瀧ら（2001）に従って，ステージ C（開口，上屈前仔魚期），ステージ D（尾鰭原基出現，上屈前仔魚期），ステージ E（上屈仔魚期），ステージ F（変態前，上屈後仔魚期），ステージ G（変態開始，上屈後仔魚期），ステージ H（変態中期，上屈後仔魚期），ステージ I（変態完了，稚魚期）の 7 段階に区分し，全長の測定を行った。また，発育進行状況の目安として各試験区の着底（変態）開始日を記録した。

飼育終了後の試料採集と稚魚の形態区分

全ての魚が着底を完了した時点で飼育を終了し，全個体（約90～2630尾）を10%中性ホルマリン溶液で固定・保存した。標本は前章の Fig. 1-2（ホシガレイ）および Fig. 1-6（マガレイ）に従って正常，白化，両面有色の 3 タイプに分類した後，各タイプの出現率（タイプの出現尾数／総尾数× 100）を試験区ごとに算出した。また，BA 給餌による影響を統計的に確認するため，白化魚の出現率をそれぞれ山田・北田（1997）の方法にしたがって逆正弦変換した。等分散性を確認したのち，Tukey-Kramer の多重範囲検定法を用いて群間の有意差（$P<0.05$）を検定した。

結果

生残および発育，成長

試験終了時の生残率および全長は，マガレイでは 15.2 ～ 52.5%および10.8 ～ 14.1mm，ホシガレイでは 8.8 ～ 71.3%および21.5 ～ 29.1mm と試験区ごとに大きく異なったが，両種とも BA 給餌開始時期との関係は認められなかった。着底（変態）開始はマガレイでは20日，ホシガレイでは25日と26日であった。一方，着底が完了（試験終了）するまでの期間はマガレイでは30～33日間，ホシガレイでは53～60日間であった。マガレイ，ホシガレイともに着底完了日には試験区によって一定の傾向は見られなかった。（Table 2-2）。

変態異常の出現状況

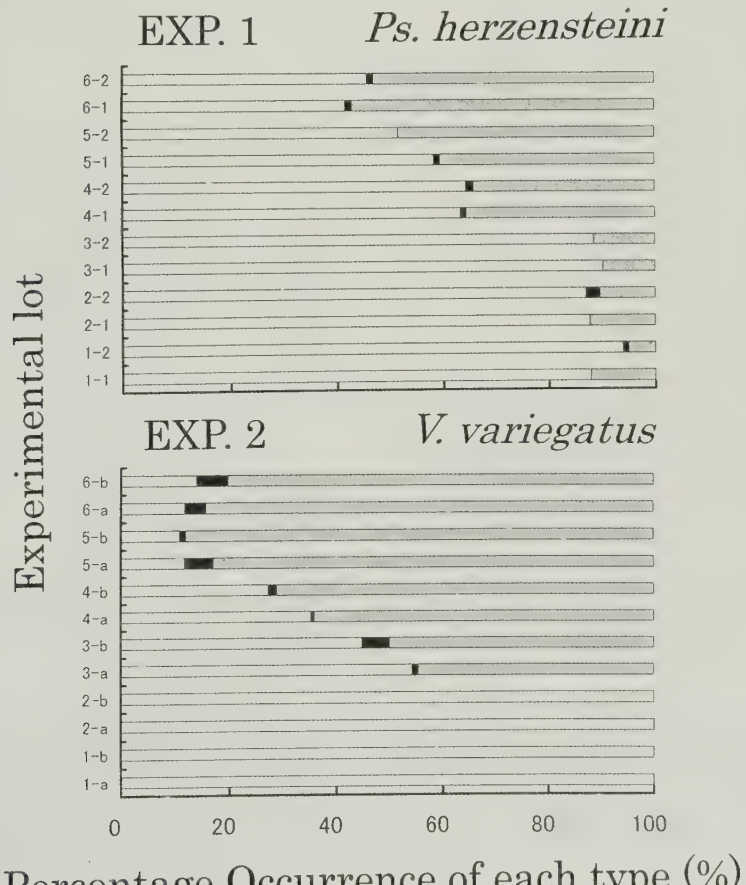
Figure 2-2に各試験区の白化魚，両面有色魚，正常魚の出現率を示した。マガレイにおける白化魚出現率は 1 ～ 3 区の約90%から 6 区の約40%へ BA 給餌開始時期が遅くなるにしたがって減少した。この傾向はホ

Table 2-2. Duartion of rearing settlement age, survival rate and harvested fish size of rearing experiments of *Ps. herzensteini* and *V. variegatus* in chapter II

	Lot no.	Duration of rearing days	Settlement age DAH	Survival rate %	Harvested fish Mean TL*(SD) mm
Exp. 1					
Ps. herzensteini	1-1	30	20	19.6	11.5 (1.0)
	1-2	33	20	16.1	11.6 (1.3)
	2-1	30	20	52.5	11.6 (1.0)
	2-2	30	20	39.6	11.2 (0.7)
	3-1	30	20	14.0	12.0 (1.1)
	3-2	33	20	46.7	14.1 (1.8)
	4-1	33	20	15.6	12.5 (1.0)
	4-2	30	20	17.2	11.8 (1.0)
	5-1	33	20	43.3	12.4 (1.3)
	5-2	33	20	15.9	11.2 (1.0)
	6-1	30	20	15.2	10.8 (0.6)
	6-2	30	20	15.4	12.4 (1.1)
Exp. 2					
V. variegatus	1-a	60	26	27.7	23.7 (2.9)
	1-b	60	25	37.4	24.1 (2.5)
	2-a	60	26	32.5	24.0 (2.0)
	2-b	60	26	8.8	29.1 (4.4)
	3-a	60	25	16.7	23.9 (2.6)
	3-b	60	25	71.3	24.3 (2.5)
	4-a	53	26	23.7	25.4 (2.2)
	4-b	53	25	18.7	24.2 (2.2)
	5-a	53	26	37.6	21.5 (1.5)
	5-b	53	25	34.9	21.5 (1.5)
	6-a	53	25	43.3	24.5 (1.0)
	6-b	53	25	36.4	25.2 (1.0)

*TL: Total length.

Fig. 2-2. The percentage occurrence of each morphological type in Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegates*).
▨ : nomal fish, ■ : ambicolorate fish, □ : pseudoalbino fish.



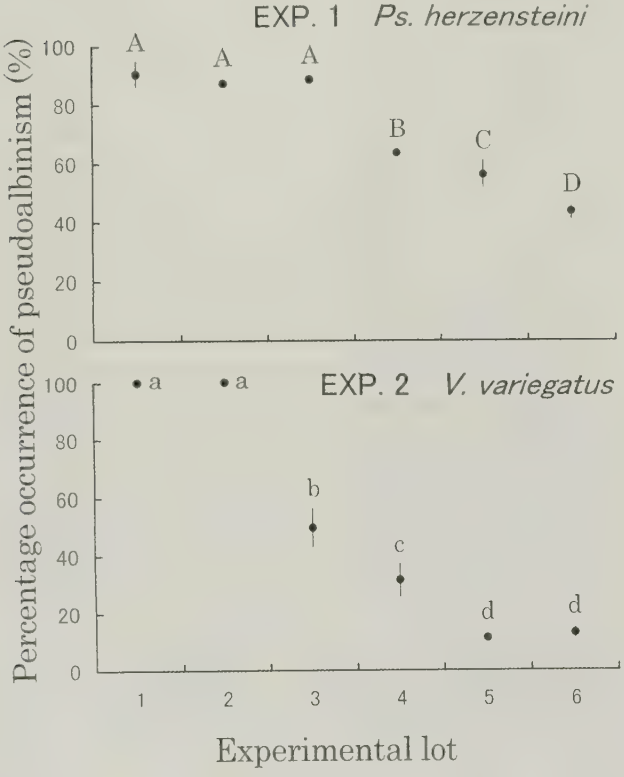
シガレイも全く同様で，1区および2区の100%から5，6区の約15%と段階的に減少した。両面有色魚の出現率は，マガレイでは0～2.6%，ホシガレイでは0～5.8%といずれもきわめて低く，またBA給餌開始時期との間に特徴的な傾向は認められなかった。正常魚の出現率は，白化魚と全く逆の傾向を示し，BAの給餌開始時期が遅くなるにつれて増加した。

Figure 2-3に各試験区における白化魚の平均出現率および統計検定結果を示した。白化魚の出現率は，マガレイでは1，2，3区が90.5～87.4%とほぼ同じ値であったものの，4区以降63.1～43.7%まで大きく減少した。一方，ホシガレイは1，2区で100%であったものが，3，4区は56.2，37.0%と減少し5，6区で11.9，14.5%となった。これら試験区間の比較を行った結果，両種とも上記出現傾向が統計的にも確認された。

給餌開始時期の全長と発育ステージ

Figure 2-4に各試験区におけるBA給餌開始時の飼育魚の全長組成を示した。マガレイ，ホシガレイとも

Fig. 2-3. The percentage occurrence of pseudoalbino fish in Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegates*).
Vertical bar represents SD of the mean. a, b, c and A, B, C : Means with different letters are significantly different at 0.05 level within each percentage occurrence.



各試験区におけるBA給餌開始時の全長は，ほぼ設定したとおりの値を示した。また，給餌開始サイズが大きくなるほど組成の幅も広がっていた。組成のモード（範囲）は，マガレイで1区の5.0mm（4.5～5.5mm）から5区の8.0mm（6.0～11.0mm），ホシガレイで1区の6.5mm（6.0～7.0mm）から5区の17.5mm（11.5～20.0mm）であった。

Table 2-3に各試験区におけるBA給餌開始時の発育ステージ組成を示した。マガレイでは，1区がステージC，2区がステージD，3区がステージD，E，4区がステージE，F，5区がステージE～Iであった。ホシガレイでは，1区がステージC，2区がステージD，E，3区がステージD～G，4区がステージE～G，5区がステージF～Iであった。

考察

成長，生残

今回の試験において，マガレイ，ホシガレイ両種の着底開始日はマガレイではいずれの試験区も20日前後，ホシガレイでは25日前後と試験区間の差はほとんど見られなかった。ヒラメ（Seikai *et al.*, 1986）やマコガレイ（陸谷，1988）では，浮遊期の飼育環境により成長・発育が異なり，着底，変態までの期間が大きく変動する。本研究において各試験区の着底開始日に大きな差が認められなかったことは，BAの給餌がマガレイおよびホシガレイの浮遊期仔魚の発育には大きな影響を及ぼしていないことを示唆している（Table 2-2）。また，試験終了時の全長および生残率は，ホシガレイ，マガレイとも同一試験区の2水槽間で異なる事例が見られた。しかし，これらの水槽間でも正常，両面有色，白化魚の出現率はほぼ同じであり，今回の試験において成長および生残は，変態後の形態決定に大きく影響していないと考えられる（Table 2-2, Fig. 2-2）。

BAの給餌と白化魚の出現

ヒラメでは，給餌したアルテミアの産地によって白化魚の出現率が異なり，BAを与えた区の稚魚はほぼ100%白化魚に変態することが確認されている（Seikai *et al.*, 1987a）。また，Seikai *et al.*（1987c）はBAの給餌時期を変えてヒラメの飼育を行い，変態開始直前の発育ステージが白化魚の出現に大きな意味を持つことを明らかにしている。

本研究においても，BAの給餌が白化魚の出現におよぼす影響はきわめて顕著であった。アルテミアの摂餌が可能となった時期（マガレイ；全長5mm，ホシガレイ；全長7mm）から変態完了まで継続してBA

を与えた場合，マガレイではほぼ90%，ホシガレイでは全ての魚が白化魚となった（Fig. 2-2）。さらに白化魚の出現状況には，BA の給餌開始時期と密接な関係が認められた。早期から BA を与えた試験区（マガレイでは1～3区，ホシガレイでは1，2区）では出現率が90～100%ときわめて高率であったのに対し，それ以降は給餌開始時期が遅れるにしたがって減少した（Fig. 2-3）。このことは，BA 給餌の影響がマガレイでは3区，ホシガレイでは2区までならば大部分の魚に及ぶが，それ以降の試験区ではマガレイ，ホシガレイともに BA の影響を受けない仔魚が一部に含まれてくることを示唆している（Figs. 2-1, 2-2）。

変態異常の決定時期

ほぼ全ての仔魚が BA の影響を受けたと考えられるマガレイの3区およびホシガレイの2区において，BA 給餌開始時の全長の最大値はマガレイが8 mm，ホシガレイが10mm，最も進んだ発育段階は両種ともステージEであった（Fig. 2-4, Table 2-3）。一方，BA の影響を受けなかった仔魚が含まれていると判断されるマガレイの4～5区，ホシガレイの3～5区においては BA 給餌開始時期には，上記よりも全長が大きく，発育ステージの進んだ仔魚が含まれていた。また，その様な仔魚の比率が高くなるにつれて白化魚出現率は減少する傾向がある。特にステージEが全く含まれていなかったホシガレイの5区における白化魚の出現率は，BA を与えていない対照区と有意な差が認められなかった（Fig. 2-4, Table 2-3）。

以上のことから BA の給餌は，マガレイではおよそ全長8 mm，ホシガレイでは全長10mm，また両種とも発育ステージではEまでであれば白化出現に影響を及

Fig. 2-4. Length-frequency distributions of Exp. 1 (*Pseudopleuronectes herzensteini*) and Exp. 2 (*Verasper variegates*) in each experimental lot began to feed on Brazilian strain *Artemia* nauplii.

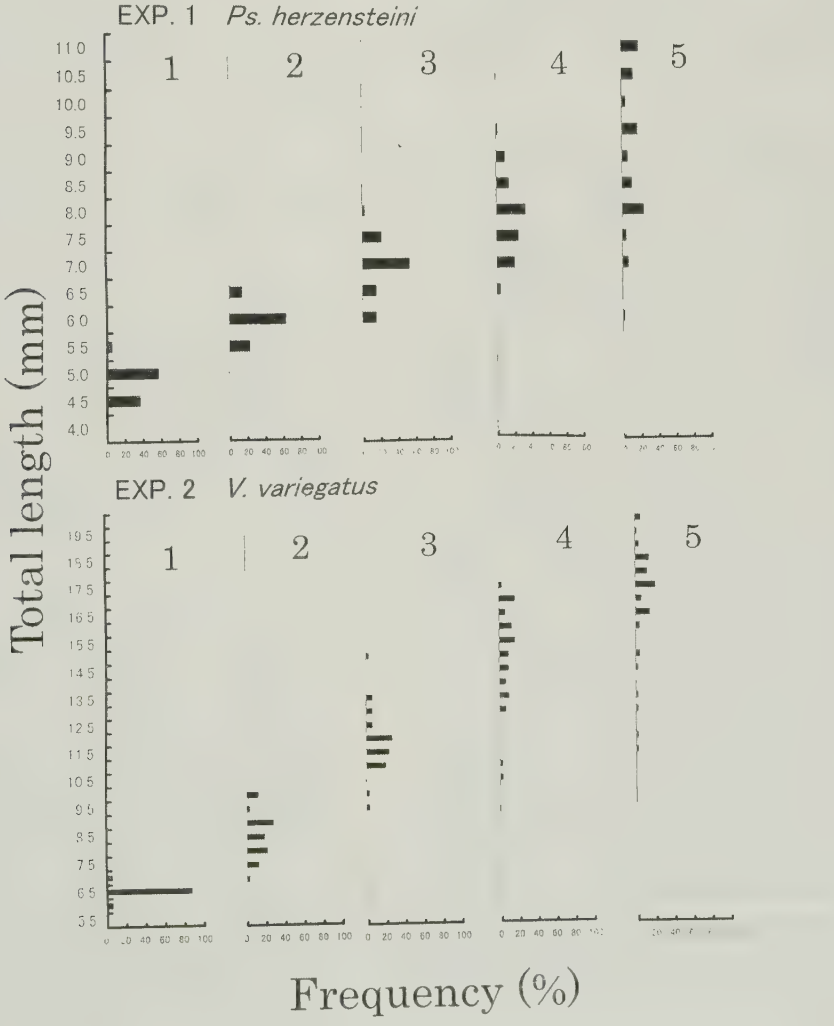


Table 2-3. Developmental stage composition of each experimental lot at the beginning of BA* feeding

	Stage	Experimental lot 1	2	3	4	5
Exp. 1						
Ps. herzensteini	C	100				
	D		100	15.8		
	E			84.2	70.0	10.0
	F				30.0	10.0
	G					50.0
	H					15.0
	I					15.0
Exp. 2						
V. variegatus	C	100				
	D		84	3.3		
	E		16	20.0	6.5	
	F			70.0	19.4	8.2
	G			6.7	74.1	18.3
	H					47.0
	I					26.5

* BA: *Artemia* nauplii of Brazil strain.

ぼすが，それ以上に成長・発育した仔魚では影響しないと判断される．すなわち，両種ともステージＦ以降の仔魚ではすでに変態後の形態が決定している可能性が高い。

著者は前章でカレイ科魚類の白化魚は変態の異常であることを明らかにしたが，上記試験において得られたBA給餌による白化魚出現率の増加は，BAがマガレイおよびホシガレイの変態に対し大きな影響を与えていることを示唆している。また，両種に共通したBA給餌効果の『変曲点』であることが明らかとなったステージＥ，Ｆは，マガレイやホシガレイの変態や変態異常の発現に大きな意味を持つ時期であると推察される。

両種ともステージＦは，脊索末端の上屈終了から，眼球の移動開始直前までの上屈後仔魚である．脊索末端の上屈が終了すると尾鰭鰭条が定数に達し，尾鰭の形成が概ね完了する。また，消化管が下方に垂下し腹部は著しく膨出する。これらに伴い体高は増加し，異体類特有の体型が形成される。ホシガレイでは，比成長の変曲点や着底の開始（有瀧ら，2001），胃腺をはじめとした消化系の発達（堀田ら，2001a），塩分耐性の獲得（堀田ら，2001b），変態ホルモンの分泌量増加（堀田ら，2001a）等の変化が変態直前のステージＦに集中する。これらは変態前の仔魚において，すでに内部形態や生態的機能が着底・変態に向けて分化しつつあることを示唆している　先に，ヒラメでは変態直前の発育ステージでBAの感受性が高いことを述べたが，今回のカレイ科魚類２種の知見を含め総合的に判断すると，多くの異体類において変態直前，とくにステージＦで変態後の形態が決定している可能性が高いと考えられる。

第３章　飼育したカレイ科魚類の変態異常と仔魚の成長および発育

前章までにカレイ科魚類の変態異常を現象面から検討し，発現の決定時期について明らかにしてきた。本研究の冒頭に述べたようにカレイ科魚類の多くは，古くから栽培漁業の対象種として取りあげられてきたものの，どの種においても変態異常が出現し問題となってきた。これらカレイ科魚類における変態異常に関して，マコガレイでは飼育水温と異常魚の出現状況の関係が検討されている。しかし，他種では全く検討されておらず，変態異常発生の機序については明らかになっていない。本章では，浮遊期間，各発育ステージの平均サイズ，生態的特性が異なるマガレイ，ホシガレイ，ババガレイを供試魚として用いた。それぞれの仔魚を様々な水温で飼育し，変態異常の出現に及ぼす影響を明らかにするとともに，その原因のひとつとして考えられる仔魚期の成長・発育との関係を検討した。さらにそれぞれの魚種について天然魚と飼育魚の発育状況を比較し，変態異常の発現機序についてその一端を明らかにすることを目的とした。

Table 3-1. Outline of the rearing experiments for Pleuronectidae reared under various water temperatures in chapter Ⅲ

Lot no.	Species	Target temperature(℃)	Method of fertilization	Beginning of experiment	Initial density of larvae (ind. /KL)	Number of replicate
Exp. 1	*Pseudopleuronectes herzensteini*	6, 9, 12, 15, 18, 21, 24	Natural spawing	8 Mar. 1994	14000	2
Exp. 2	*P. herzensteini*	6, 9, 12, 15, 18, 21	Natural spawing	18 Jan. 1995	10000	1
Exp. 3	*Verasper variegatus*	10,12,14,16,18	Artificial fertilization	5 Feb. 1998	10000	1
Exp. 4	*V. variegatus*	9,12,15,18,21	Natural spawing	26 Feb. 1999	20000	2
Exp. 5	*V. variegatus*	9,12,15,18,21	Artificial fertilization	21 Feb. 2000	10000	2
Exp. 6	*Microstomus achne*	9,12,15,18,21	Natural spawing	21 Mar. 1996	10000	1

材料と方法

供試魚および試験区の設定

マガレイは日栽協能登島事業において1994年（試験1），1995年（試験2）に，ホシガレイは，同宮古事業場において1998年（試験3），1999年（試験4），2000年（試験5）に，ババガレイは同能登島事業場において1996年（試験6）にそれぞれ試験を行った。Table 3-1に示すように各試験は天然魚からの人工授精または自然産卵により採卵を行い，ふ化した仔魚を使用した。また，同表に示したようにそれぞれ5～7段階の水温で飼育を行う試験区を設けた。

飼育条件

受精卵は，採卵後直ちに8～9℃に調温した水槽に収容し，マガレイでは7日間，ホシガレイではおよそ8日間，ババガレイでは13日間，ふ化まで管理した。ふ化仔魚は，Table 3-1に示した密度になるようポリカーボネイト製円形0.5kL水槽へ収容し，飼育を開始した。

仔稚魚の餌料には3魚種とも，ワムシ，アルテミアを用いた。ワムシは仔魚の開口直後から，マガレイとホシガレイでは全長8 mmまで，ババガレイでは全長13mmまで，3個体/mLを維持するように与えた。ワムシの栄養強化のため，試験1，2ではスーパーロティファー（4 g/1000万個体，ヒガシマルkk.），試験3ではフェオダクチラム *Phaeodactylum spp.*（100～150万細胞/mL），試験4，5ではプラスアクアラン（100g/kL，武田化学飼料kk.），試験6ではアクアラン（200 g/kL，理研ビタミンkk.）を給餌16時間前に添加した。

アルテミアは，マガレイでは仔魚の全長が5 mmを越えた時点から，ホシガレイでは全長7 mmから，ババガレイではワムシの摂餌を確認してから，それぞれ10～60万個体を1日2回に分けて試験終了まで与えた。アルテミア耐久卵は，北米産のものを用い，卵収容24時間後に分離した。アルテミアの栄養強化のため，試験1，2ではスーパーアルテミア（10g/1000万個体，ヒガシマルkk.），試験3ではDHAce（150 g/kL，オリエンタル酵母kk.），試験4，5ではプラスアクアラン（100 g/kL，武田化学飼料kk.），試験6ではパワッシュ－A（50 g/kL，オリエンタル酵母kk.）を給餌の16時間前に添加した。

ワムシ給餌期間中，試験1，2，6の飼育水には，1日1回ナンノクロロプシスを50万細胞/mLになるよう，試験3～5には市販の淡水クロレラ濃縮液（フレッシュグリーン，日清サイエンスkk.）を1日当たり20mL添加した。飼育水の調温には0.5kwおよび1.0kwの投げ込み式ヒーター（日東機材kk.）と2.2kwの小型冷却機（TC-2200E，山一製作所kk.）を用いた。飼育開始時の8～9℃から設定水温までは，1℃/1日の速度で上昇させた。仔魚飼育と餌料培養には濾過海水を使用した。水槽内には，飼育開始当初からごく微量の通気・注水を施した。通気量は期間中一定に保ったが，水槽への注水は，1日当たり全体の50%から，アルテミア給餌開始以降は100%，仔魚が着底して以降は300%を目安に順次増加した。

成長と発育の観察

試験1，3～6では，発育・成長に関する観察を行った。試験1ではふ化直後から47日目までは2日間隔，それ以降65日目までは3日間隔で，試験3～6では原則としてふ化直後から5日間隔で，それぞれ無作為に25尾の仔稚魚を採集した後，10%エチレングリコールモノフェニルエーテルを用いて麻酔を施し，万能投影機とノギスで全長を計測した。

試験1，4，6については測定に用いた仔稚魚を5%中性ホルマリン溶液に2日間固定後，70%エタノールに移して保存した。これらの試料は，飼育終了後に有瀧ら（2000，2001）有瀧・田中（2003）に従って発育ステージを区分した。また，各試験区の着底開始ス

テーシを確認し，全長測定をあわせて行った。それぞれの試験区における着底開始時の全長は，水温の影響を確認する目的で低水温（15℃以下），中水温（15℃），高水温（15℃以上）の3群間で平均値を算出した。平均値は，Tukey-Kramer の多重範囲検定法を用いて群間の有意差（$P<0.05$）を検定した。

稚魚の形態区分

全ての魚が着底を完了した時点で試験を終了し，全個体を10%中性ホルマリン溶液で固定・保存した。標本は Fig. 1-2（ホシガレイ），Fig. 1-3（ババガレイ），Fig. 1-6（マガレイ）に従って正常魚（タイプA），白化魚（タイプB,B′），両面有色魚（タイプC）に分類した後，各タイプの出現率（タイプの出現尾数／総尾数×100）を試験区ごとに算出した。繰り返し試験を行ったマガレイ（試験1～2）とホシガレイ（試験3～5）の各タイプの出現比率は，水温による影響を統計的に確認するため，前者は水温ごとに，後者は5群（9～10℃，12℃，14～5℃，16～18℃，21℃）にまとめ，山田・北田（1997）の方法にしたがって逆正弦変換した。等分散性を確認したのち，Tukey-Kramer の多重範囲検定法を用いて群間の有意差（$P<0.05$）を検定した。

マガレイ天然稚魚の発育と成長

マガレイの天然海域における発育・成長とふ化後日数の関係を検討する目的で，耳石の輪紋数を観察した1994年4月23日～6月17日に新潟県岩舟沖，水深25～70m で得られた天然稚魚20尾を供試魚とした。魚体から有眼側の耳石を取り出しエポキシ樹脂で包埋後，ラッピングフィルム（マルトー製，1～9 μm）で研磨し，0.1規定 EDTA 溶液で30秒エッチング処理後，生物顕微鏡下で計数した。計数は3回行い，その平均値を輪紋数とした。

結果

飼育の概要

1） マガレイ　試験1および試験2終了時の生残率は，0～83.4%と試験区によって大きく異なったが，全体としては設定水温の両端で低くなった。特に21℃の1水槽と24℃の2水槽では，試験途中で全ての個体が死亡した（Fig. 3-1）。

飼育途中の成長過程は試験1においてのみ検討した。開始時に平均全長3.0mm であったふ化仔魚は，全ての稚魚が着底した試験終了時には，平均全長10.0～12.3mm まで成長した。飼育日数，即ち変態までの日数は，飼育水温の上昇とともに短くなった。着底まで飼育できた試験区のうち飼育期間が最長であったのは

Fig. 3-1. Relationship between water temperature and survival rate at the end of the each rearing experiment.
●：EXP. 1, ○：EXP. 2, ▲：EXP. 3, △：EXP. 4, ■：EXP. 5, [ ]：EXP. 6.

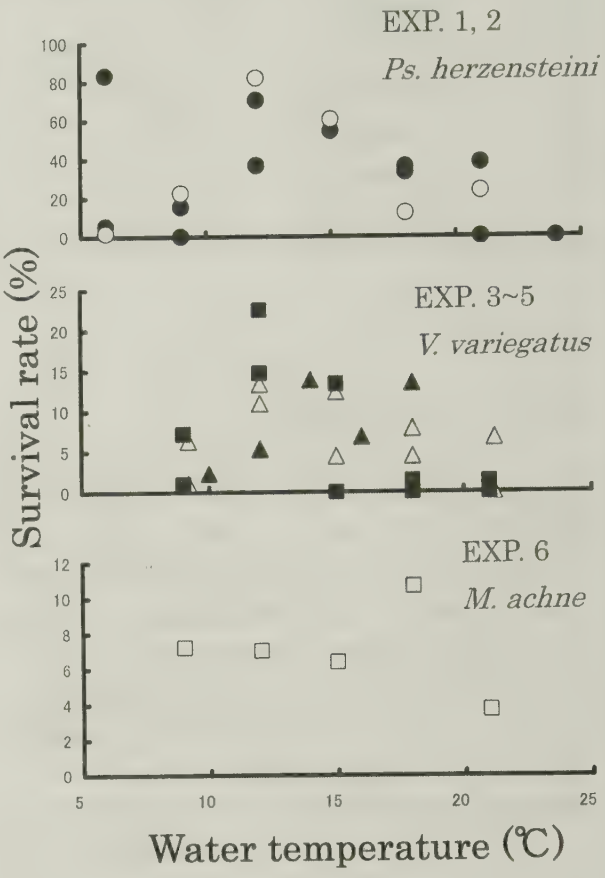
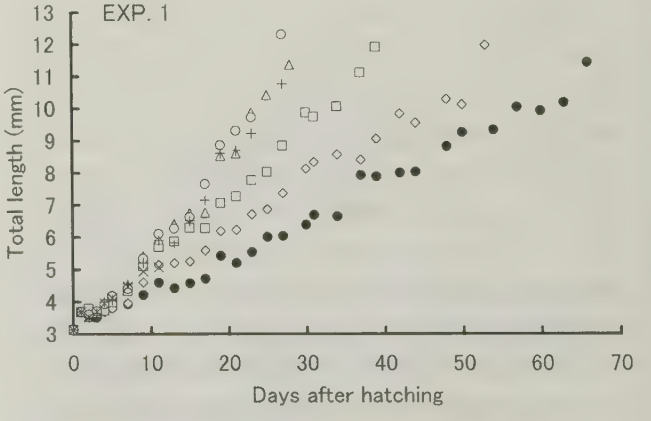


Fig. 3-2. Growth of the brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* reared at 7 different temperatures.
● 6℃, ◇ 9℃, □ 12℃, △ 15℃, ○ 18℃, + 21℃, × 24℃.



6℃の66日間で，最短は18℃の26日間であった。成長は15℃と18℃が最も良好で，21℃と24℃ではむしろ低下した。また，12℃以下の試験区での成長は，設定水

温が低くなるにつれて順次遅れた（Fig. 3-2）。

2） ホシガレイ　試験３～５終了時の生残率は，10℃以下と20℃以上で低くなる傾向が認められた（Fig. 3-1）。特に試験４と試験５の15℃より高い水温区では着底完了以前に全個体が死亡する水槽が見られた。

３回行ったいずれの試験においても設定水温が高くなるにつれて成長は促進された（Fig. 3-3）。平均全長20mmを上回るのに要した日数は，水温９～10℃で80～110日，12℃で65～75日，14～16℃で50～55日，18～21℃で40日前後と高水温ほど短かった。また，飼育終了まで，即ち着底完了までに要した日数は21℃が最も短く43日，９℃が最も長く95日であった。

3） ババガレイ　試験終了時の生残率は，最も高い18℃でも10.6％と全般に低くかったが，特に21℃では3.6％と最低の値を示した（Fig. 3-1）。９～18℃では水温の上昇と共に成長の促進が観察された。一方，21℃

Fig. 3-3. Growth of the spotted halibut *Verasper variegatus* reared at 5 different temperatures.
◆ 10℃, ■ 12℃, ▲ 14℃, ● 16℃, ＊ 18℃.
◇ 9℃, □ 12℃, △ 15℃, ○ 18℃, ＋ 21℃.

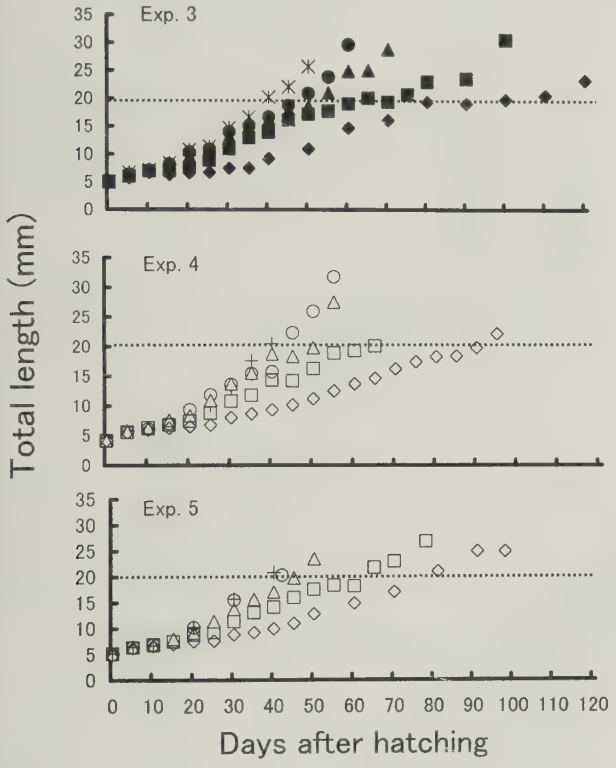


Fig. 3-4. Growth of the slime flounder *Microstomus achne* reared at 5 different temperatures.
◇ 9℃, □ 12℃, △ 15℃, ○ 18℃, ＋ 21℃.

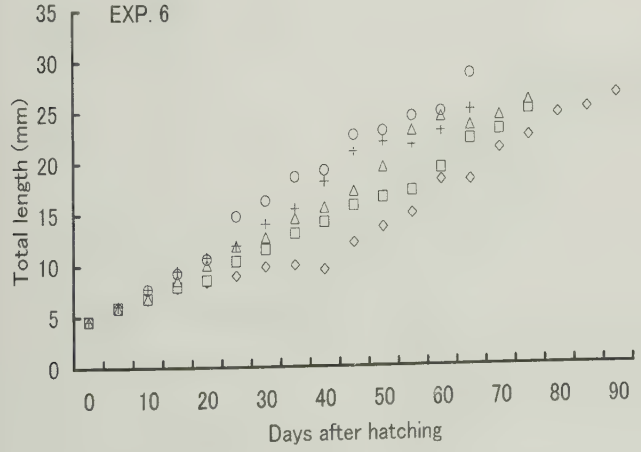
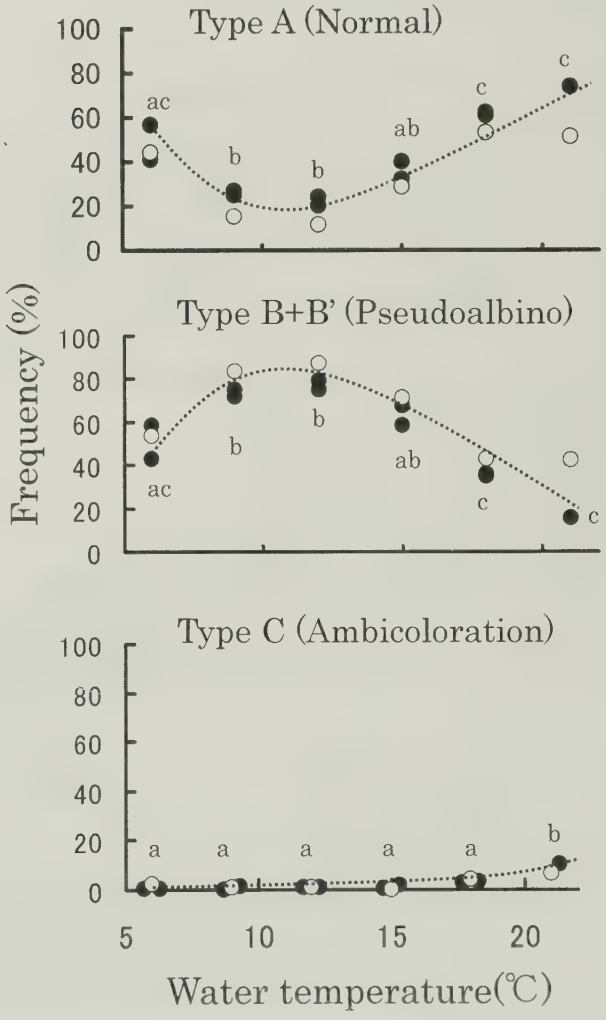


Fig. 3-5. Relationships between rearing temperatures and frequency occurrences of Type A (normal), Types B and B′ (pseudoalbino), and Type C (ambicolorate) juveniles in the laboratory-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* juveniles. Means with different letters (a, b, c) show significant difference at 0.05 level within each stage (Tukey's multiple comparison test).
● : Exp. 1, ○ : Exp. 2.



では飼育25日目以降，18℃よりも常に小さかった（Fig. 3-4）。全ての仔魚が変態を完了するまでに要した日数は，最短で18℃の70日，最長が9℃の91日であった。

変態異常の出現状況

1） マガレイ　飼育試験2における各タイプの出現率は，ほぼ同様の傾向を示した（Fig. 3-5）。また，同一水温で2水槽を設定した試験1では，水槽間でほとんど相違がなかった。正常魚の出現率はU字型を示し，水温が9～12℃で約20%と最も低くなり，その前後で高くなった。この傾向は高い水温で顕著に現れ，試験1の21℃では73.8%と最高値を示した。一方白化魚の出現率は，正常魚とは全く逆の傾向を示した。つまり飼育水温が9～12℃で約80%と最も高く，その前後で低く全体として緩やかなドーム型を呈した。両面有色魚は全般的に出現率が低く，どの試験区においても20%以下であったが，21℃でやや高くなる傾向が見られた。各タイプの出現率について水温間の多重比較を行った結果，上記出現傾向が統計的にも確認された。

2） ホシガレイ　各タイプ出現率の水温による増減傾向は飼育試験3～5を通してほぼ同様であった（Fig. 3-6）。正常魚の出現率は水温が9℃近辺では約50%であったが，18℃では約80%と最も高くなった後，それ以上の温度帯では低下し，21℃では20%前後となった。白化魚の出現率は12℃で約40%と最高値を示し

Fig. 3-6. Relationship between water temperature and occurrence of type A (normal), type B and B′ (pseudoalbino), and type C (ambicolored) juveniles of the laboratory-reared spotted halibut *Verasper variegatus*.

Means with different letters (a, b, c) show significant difference at 0.05 level within each stage (Tukey's multiple comparison test).

▲：Exp. 3, ●：Exp. 4, ○：Exp. 5.

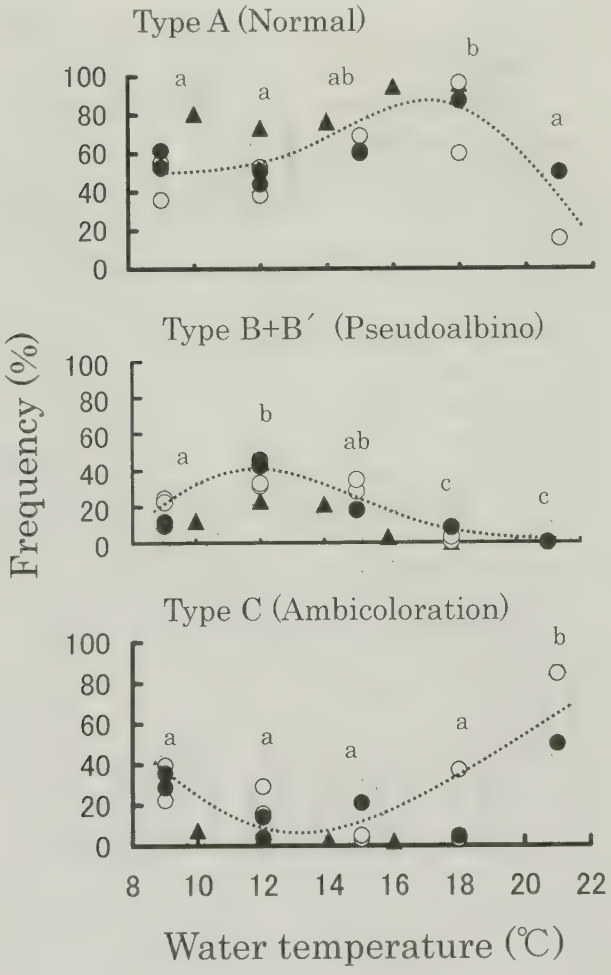
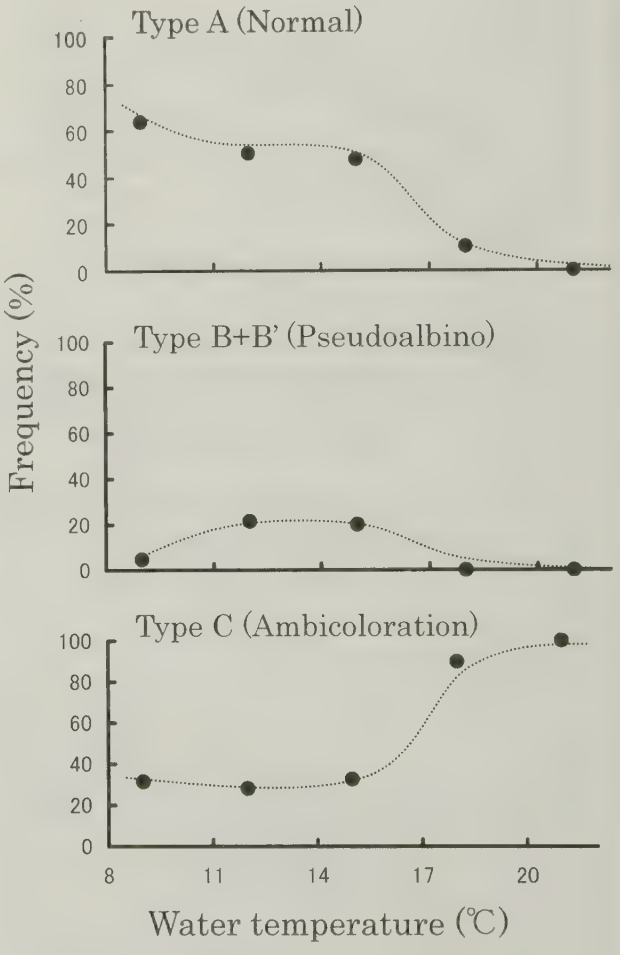


Fig. 3-7. Relationship between water temperature and occurrence of type A (normal), type B and B′ (pseudoalbino), and type C (ambicolored) juveniles of the laboratory-reared slime flounder *Microstomus achne*.

●：Exp. 6.



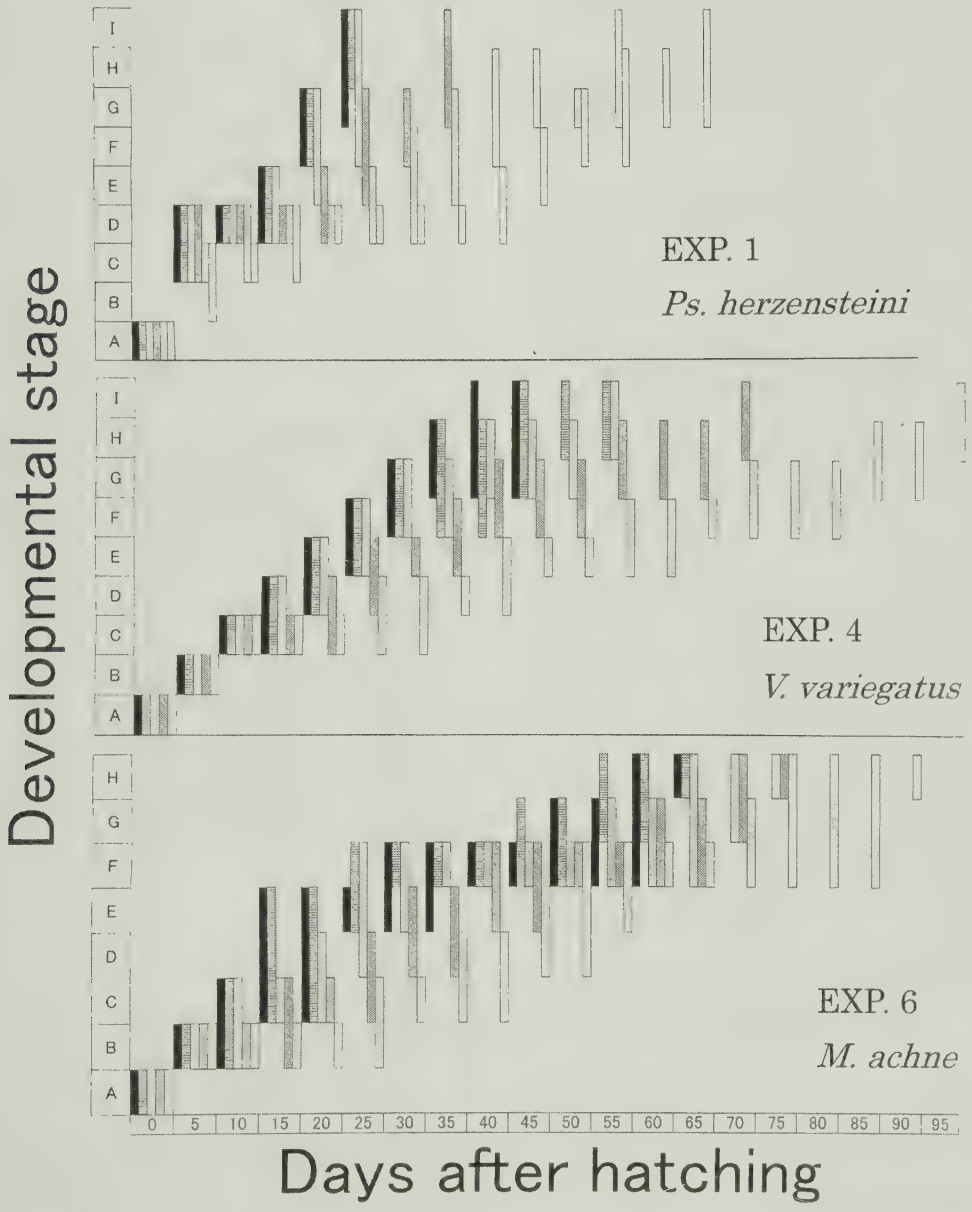
たが，9℃や21℃の出現率はそれぞれ約20%，0%と下がり，マガレイ同様，緩やかなドーム型を呈した。両面有色魚の出現率は，白化魚とは逆にU字型を示し，21℃近辺で50－85%と最高値を示した。グループ間の多重比較を行った結果，上記出現傾向が統計的にも確認された。

3) ババガレイ　正常魚の出現率は水温が低くなるほど高く，9℃で約60%と最高値を示した。白化魚の出現率は全体的に低かったが，水温12～15℃で約20%とピークを示した。両面有色魚の出現率は正常魚と全く逆の傾向を示し，水温21℃で約90%と最も高くなった（Fig. 3-7）。

発育段階の進行

発育段階の進行はマガレイでは試験1，ホシガレイ

Fig. 3-8. Changes in developmental stage (A – I) composition at 5-day intervals in larvae and juveniles of brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, spotted halibut *Verasper variegatus* and slime flounder *Microstomus achne* under 5-6 different water temperatures in Exp. 1, 4, 6.
■: 21℃, ▤: 18℃, ▨: 15℃, ▧: 12℃, ▩: 9℃, □: 6℃.



では試験4，ババガレイでは試験6についてのみ検討を行った。

1) マガレイ　開口および尾鰭原基の発現するステージC，Dまでは，各発育段階の進行は9℃を除いて大きな差異は認められなかった（Fig. 3-8）。それ以降のステージでは水温の高い区で早くなり，特に水温12℃以上の試験区で顕著であった。

また，体構造に大きな変化が起こる変態期（ステージG～I）までの平均出現日数は，6℃では59～67日，18℃では21～28日と水温の上昇によって短縮化した（Fig. 3-9）。しかし，21℃では18℃よりごくわずか遅くなった。着底は変態初期（ステージG）に始まったが，その時の全長は高水温でわずかに小さくなった（Fig. 3-10）。全長の平均値は，9.76mm（9.13～10.14mm）であった。

2) ホシガレイ　ステージC（開口期）までの発育段階の進行には，水温区間の差異は認められなかった（Fig. 3-8）。しかし，それ以降のステージでは飼育水温の高い試験区ほど早期に発育段階が進む傾向があり，特に15℃以上の試験区で顕著であった。変態期にあたる各発育段階（ステージG～I）の平均出現日は，9℃では79～95日，18℃では34～50日と水温の上昇と共に早くなった。しかし，21℃では18℃に比べてやや遅れ変態開始が40日，変態完了までが42日となり，変態期間がきわめて短くなっていた（Fig. 3-9）。着底はマガレイ同様変態初期（ステージG）で始まったが，その時の全長は高水温ほど小さい傾向が認められた（Fig. 3-10）。全長の平均値は，13.45mm（12.12～14.56mm）であった。

3) ババガレイ　ステージB（開口）までの発育段

Fig. 3-9. Average age when the three metamorphic stages appeared in the laboratory-reared larvae and juveniles of the brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, spotted halibut *Verasper variegatus* and slime flounder *Microstomus achne* under different temperatures.
●：early phase of metamorphosis (stage G; *Ps. herzensteini* and *V. variegatus*, stage F; *M. achne*).
○：late phase of metamorphosis (stage H; *Ps. Herzensteini* and *V. variegatus*, stage G; *M. achne*).
▲：metamorphosed juvenile (stage I; *Ps. Herzensteini* and *V. variegatus*, stage H; *M. achne*),.
Vertical bar represents SD of the mean.

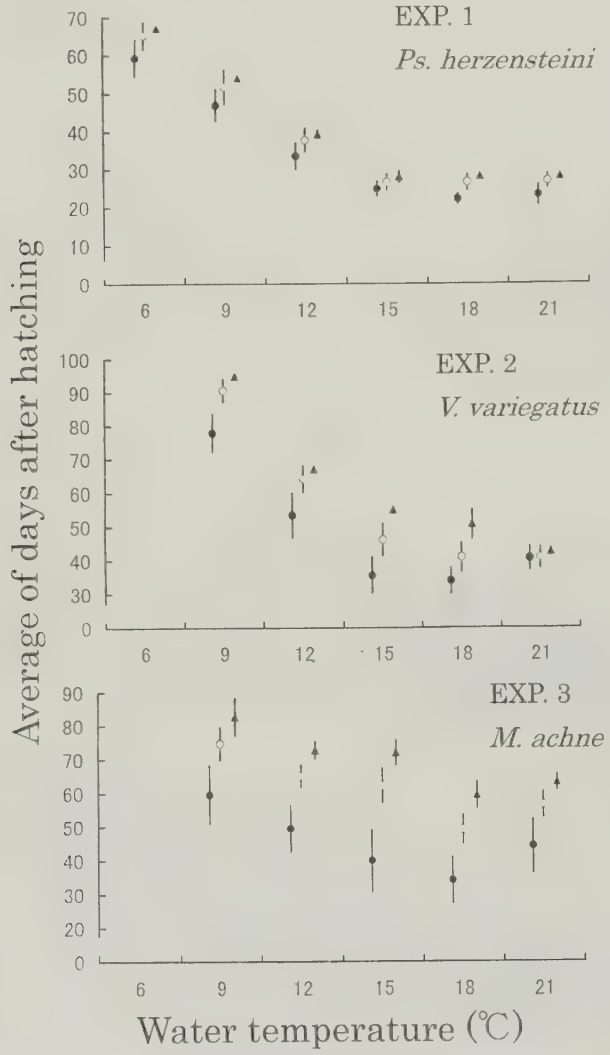
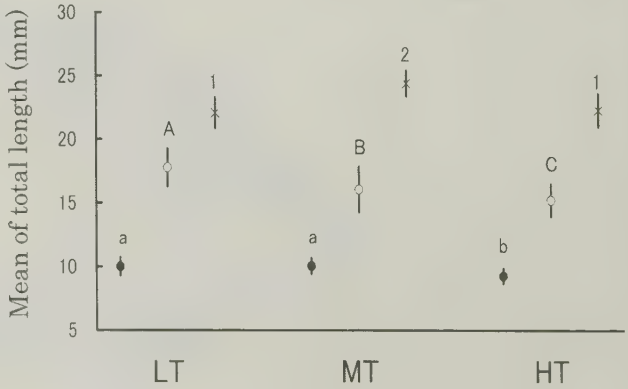


Fig. 3-10. Total length of the settlement stage first appeared in the laboratory-reared juveniles of the brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini*, spotted halibut *Verasper variegatus* and slime flounder *Microstomus achne* under different temperatures. Vertical bar represents SD of the mean. Means with different letters (a, b, c, A, B, C, 1, 2, 3) show significant difference at 0.05 level within each stage (Tukey's multiple comparison test).
●：*Ps. Herzensteini*, ○：*V. variegatus* ＊：*M. achne*.
LT：low temperature (16－14°C), MT：mid temperature (15°C), HT：high temperature (16－21°C).



階の進行には，水温区間の差異は認められなかった。しかし，それ以降のステージでは水温の高い試験区で早く，特に15℃以上の試験区で顕著であった（Fig. 3-8）。変態期にあたる各発育段階（ステージF～H）の平均出現日は，9℃では59～83日，18℃では33～59日と水温の上昇と共に早くなった（Fig. 3-9）。また，21℃では43～63日となり，18℃よりもやや遅れた。着底は，マガレイ，ホシガレイより遅い変態中期（ステージG）に始まったが，その時の全長にはマガレイやホシガレイのように水温による傾向は認められなかった（Fig. 3-10）。全長の平均値は，22.5mm（21.84～24.38 mm）であった。

マガレイ天然稚魚の耳石輪紋数

観察した天然稚魚の概要をTable 3-2に，全長と耳石輪紋数の関係をFig. 3-11に示した。

耳石輪紋数は全長サイズが大きくなるにつれて増加し，全長10mmでは約20本であったものが全長20mmでは30本，30mmでは50本前後となった。また，輪紋数と全長の関係式は Y=1.6616X+0.515（Y= 輪紋数，X= 全長）の回帰直線で表すことが可能であった。この式から全長5，10，20，30mmにおける輪紋数は，8.8，17.1，33.7，50.4本であると推定された。

Table 3-2. Collection record of *Ps. herzensteini* juvenile captured in off Iwafune area in Niigata

Collection date	Depth (m)	TL*1 (mm)	BL*2 (mm)
23 Apr. 1994	20	10.7	9.5
17 May 1994	38	13.5	11.9
17 May 1994	38	11.2	10.1
18 May 1994	40	16.1	14.9
20 May 1994	35	29.4	27.0
20 May 1994	35	29.4	25.8
20 May 1994	35	14.8	13.5
20 May 1994	35	15.0	12.7
20 May 1994	35	12.0	11.1
20 May 1994	35	18.7	15.4
20 May 1994	35	12.0	10.7
20 May 1994	35	21.0	17.9
20 May 1994	35	17.0	14.8
20 May 1994	35	18.1	15.7
20 May 1994	35	17.0	13.6
20 May 1994	35	20.0	17.9
20 May 1994	35	19.0	16.8
20 May 1994	35	15.7	13.8
20 May 1994	35	20.5	17.2
17 June 1994	60	26.2	23.1

*1 TL: Total length.
*2 BL: Body length.

考察

仔魚の成長発育と水温

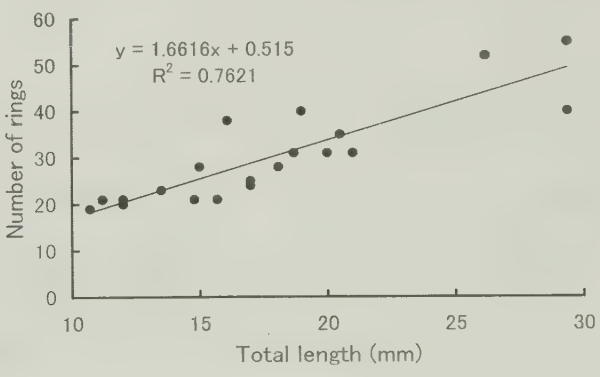
変温動物の成長および発育は，経験する水温に大きく影響されることが魚類（Chamber and Leggett, 1987; Chamber and Leggett, 1992; 田中，1993）や甲殻類（井上，1988；中西，1988），軟体類（Hamasaki and Morioka, 2002）で明らかにされている。異体類はヒラメやマコガレイで飼育試験が行われ，ヒラメを13，16，19℃で飼育した場合，全長20mmまでの到達日数および発育段階を経過する必要日数は水温が高い方で短く，後期仔魚期の日間成長量は水温が高い方で大きい（Seikai *et al.*, 1986）。また，マコガレイを飼育水温10，14，18℃で飼育した場合でも，水温が高くなるほど発育の進行が速く，日間成長量は14，18℃が10℃区の1.6倍および1.9倍となった（睦谷，1988）。今回マガレイ，ホシガレイ，ババガレイの3種を用いて水温別の飼育試験を行った結果，成長および発育は既存の知見と同様に高水温で促進，低水温で遅滞することが確認された（Figs. 3-2～3-4, 3-8, 3-9）。以上のことから，本研究で対象としたカレイ科魚類3種についても水温によって成長，発育が大きく影響されることは明らかである。

水温と変態異常の関係

本研究では，対象とした3魚種全てで白化魚と両面有色魚の出現率と飼育水温との間に一定の傾向が認められた。すなわち，白化魚は全ての魚種が12℃付近を頂点とする凸型，両面有色魚は全ての魚種が18～21℃付近を最高値とするU字型となって出現することが確認された。

さらに，この傾向はマガレイとホシガレイにおいて複数年（試験1と試験2および試験3～5）でほぼ共通して見られていることに加え，同じ年の同一水温区

Fig. 3-11. Relationships between the total length and number of rings at sazitta of the wild brown sole *Pleuronectes herzensuteini* juveniles.



の2水槽間では類似した傾向が得られているため，再現性も高いと判断される（Figs. 3-5～7）。

以上のことから，上記3魚種では飼育水温が変態異常の出現頻度に大きな影響を及ぼすことは明らかである。水温と変態異常出現の関連性は，マコガレイ（睦谷，1988）でも報告されており，異体類に広く見られる現象である可能性が高い。第1章でカレイ科魚類の変態異常は，変態期に発現する左右不相称の異常である可能性を指摘したが，本試験で得られた結果は，水温が変態期の両側の分化方向を決定する外的要因の一つであることを強く示唆している

発育・成長のバランスと変態異常の出現

前節で述べたように，本研究で供した3魚種の変態後の形態は水温によって左右される。また，飼育水温は発育や成長にも大きな影響を与えることから，変態後の形態は発育や成長，とりわけそのバランスとも密接に関係すると推察される。

マガレイとホシガレイでは，全ての個体が着底するまで飼育できた試験の生残率は9℃や21℃などの水温では低く，12～15℃では高い傾向を示した。また，正常な形態を持つ個体の出現率はマガレイでは21℃，ホシガレイでは15～18℃で最も高くなった。一方，天然海域においてマガレイおよびホシガレイの仔魚は，おおむね8～10℃前後の低水温下で生活すると報告されており（富永ら，1991；内田，1933），両魚種とも変態が正常に行われる飼育適水温と生息水温には大きなギャップが生じている。

異体類の変態は生態，形態に著しい変化が生じる転換期であり（松原ら，1979；岩井，1985；田中，1997），初期発育の進行を観察する場合にも大きな指標となる。本試験では，飼育水温が各魚種の発育に及ぼす影響を変態期のステージG（変態開始期），ステージH（変態中期）ステージI（変態完了期）の平均出現日で比較した（Fig. 3-9）。その結果，マガレイおよびホシガレイで正常魚が多く出現する18℃と21℃，15℃と18℃では変態期間はおおむね同様であり，前者は20～28日，後者は34～55日に出現のピークを示している。しかし，ホシガレイでは高水温の21℃で飼育すると，変態開始が40日前後と15℃や18℃に比べてやや遅れ，また変態完了までの期間はきわめて短くなっていた。一方，両種とも低水温の6℃や9℃では変態期間がふ化後54日から67日および79日から95日と著しく遅延し，かつ長期化した。ババガレイではこれら2種とは異なり，正常魚は9℃で最も多く出現したが，変態期は68～83日と最も長く，かつ遅くなっていた。水温と変態後の形態との関係を3魚種で比較すると，全ての魚種で白化魚および両面有色魚の出現のピークは，前者が中水温帯，後者が高水温帯で一致していたのに対し，正常魚の出現がピークになる水温は魚種によって異なっていた。魚種ごとに変態の適切なタイミングや発育速度が存在すると考えると，それぞれの種で発育の進行が速すぎる，または遅すぎるために正常魚の出現が減少したのかもしれない。

天然魚と飼育魚の成長速度と変態異常の出現

魚類ではPannella（1971）が耳石に日周性を持った輪紋があることを報告して以来，ふ化後日数の推定等，初期生活史解明の一手段として利用され，異体類でもStarry flounder *Platichthys stellatus*（Campana *et al.*, 1984）やDover sole *Microstomus Pacificus*（Toole *et al.*, 1993），ヒラメ（前田，2002）等で知見が集積されている。耳石微細輪紋の形成開始時期は魚種によって変異があるが，概ねふ化直後から開口・摂餌開始時までに集中するものが多い（Brothers, 1976；Tsuji and Aoyama, 1982; Tsuji and Aoyama, 1984）

マガレイは水深30m前後の水深帯で着底し，その着底サイズは10mm以下であることが示唆されている（有瀧・與世田，1994）。本研究では，マガレイは全長およそ9mm，眼の移動とほぼ同時に着底を始めた。今回，天然海域で採集されたマガレイ稚魚（10.7～29.4mm）から得られた全長－耳石輪紋の関係式をもとに着底開始サイズである全長9mmの輪紋数を算出すると約15本となる。マガレイの耳石微細輪紋はその形成過程について報告がなく，日周性や第一輪の形成時期については不明であるが，マガレイの第一輪形成開始を開口時と仮定すると，耳石輪紋数に開口までの日数を加算した値がふ化後日数と推定される。新潟県沿岸域におけるマガレイ生息時期の水温は10℃前後と報告されていることから（富永ら，1991），今回飼育した9℃の開口までの必要日数4日を加算すると，先にあげた全長9mmサイズのふ化後日数は19日であると推定される。この推定日齢は，正常魚の出現率が最も高くなる18℃や21℃区の平均着底日齢（21～23日）に近似した（Fig. 3-9）。

内田（1933）は，ホシガレイがごく浅い海域で変態初期に着底することを明らかにしている。今回の試験でホシガレイはステージG，全長13.5mm前後で着底した。乃一ら[*1]は天然海域で採集された着底直後（体長14.7mm）のホシガレイ仔魚の耳石微細輪紋を観察し，29本計数できることを報告した。ホシガレイにおける耳石微細輪紋の第一輪形成開始をマガレイ同様開

[*1] 乃一哲久，Subiyanto，神原利和，千田哲資．九州西岸の砂浜海岸におけるホシガレイ仔稚魚の出現．平成3年度日本水産学会秋期大会講演要集，P36，1991．

口時と仮定した場合，本種の仔魚が天然海域で出現する時期の水温は8℃前後であることから(内田, 1933)，本研究の9℃区の開口までの日数（10日）を加算すると，天然海域では39日で着底していたと推定される。この推定日齢もマガレイ同様，正常魚の出現率がピークになる15℃や18℃区における着底開始ステージGの平均出現日齢の34～36日に近似した（Fig. 3-9)。

一方，マガレイおよびホシガレイを天然海域の生息水温に近い9℃で飼育した場合，着底（ステージG）までに前者でふ化後47日，後者で79日を要している。即ち，両種とも天然魚は飼育魚よりも成長・発育が著しく良好であると考えられる。このような天然魚と飼育魚の成長速度の差はマダイ（田中，1986）やクロダイ *Acanthopagrus schlegeli*，ヘダイ *Sparus sarba*（木下，1993)，ヒラメ（前田，2002）でも観察されており，いずれも天然魚が飼育魚を上回る。

ババガレイは，今回の試験でマガレイやホシガレイと異なり発育・成長の速度が遅くなる低水温ほど正常魚の出現頻度が高くなった。ババガレイ属は変態終了サイズが20～80mmとカレイ科魚類の中ではきわめて大きく（有瀧・田中, 2003)，また *Microstomus pacificus* のように1年以上の浮遊生活を送る種もあることが知られている（Markle *et al.*, 1992; Toole *et al.*, 1993)。本研究でも着底が起こるステージFの平均全長は，22.5mmとマガレイやホシガレイに比べて著しく大きかった。また，本種は沿岸に着底するマコガレイやヌマガレイ，ホシガレイよりも長期の浮遊生活を送る可能性が飼育した仔魚の観察から示唆されている（有瀧・田中，2003)。以上のことは，ババガレイでは着底までの日数が長いほど正常魚の出現率が増加した本研究の結果が，天然での着底時期と一致している可能性を連想させる。しかし，残念ながらババガレイの仔稚魚が天然海域ではほとんど採集されておらず，初期生活史は明らかにされていない。

本研究の結果からカレイ科魚類では，発育の促進・遅延と変態異常の発現には種ごとに一定の法則のあることが推測され，体の左右両側における有眼側化，無眼側化の決定に発育速度が関連している可能性も伺われる。今後は変態後の形態が決定される発育のタイミングやそれに関わるホルモン等，変態に関連する機構と機序についても検討する必要があろう。

第4章　水温を変えて飼育したカレイ科魚類における甲状腺ホルモンの動態

前章では，飼育水温によって変動する仔魚の発育速度がカレイ科魚類仔魚の左右不相称分化に大きな影響を与える可能性を示唆した。これら不相称分化は変態時に発現するが，変態は甲状腺ホルモンによって制御されていることが多様な動物群で明らかにされており，異体類ではヒラメ（Inui *et al.*, 1994）でその関係が報告されている。

本章ではホシガレイおよびマガレイを様々な水温で飼育し，変態期における甲状腺ホルモンの動態を観察するとともに正常魚や変態異常魚の出現状況との関連を検討した。

材料と方法

供試魚および試験区の設定

マガレイは1996年に日栽協能登島事業場において，ホシガレイは1999年に同宮古事業場において，それぞれ飼育を行った。なお，ホシガレイは前章の試験4で飼育の際にサンプルを得たものである。Table 4-1に示すようにマガレイ，ホシガレイとも9℃から21℃まで5段階の水温を設定した。また，両魚種とも天然魚からの自然産卵により受精卵を得て，ふ化した仔魚を使用した。

飼育条件

飼育の概要をTable 4-1に示した。マガレイの詳細な飼育条件（採卵からふ化までの管理，使用水槽および収容密度，仔魚に対する餌料環境，調温の手法，使用海水，通気・注水量，試験終了の基準等）は全て前章の試験2に準じた。

標本の採集および甲状腺ホルモンの測定

マガレイ，ホシガレイともに発育ステージE～I（有

Table 4-1. Outline of the rearing experiments for Pleuronectidae reared under various water temperatures in chapter Ⅳ

Species	Target temperature(℃)	Method of fertilization	Beginning of experiment	Initial density of larvae (ind. / KL)	Number of replicate
Pseudopleuronectes herzensteini	9, 12, 15, 18, 21	Natural spawing	18 Mar. 1996	20000	2
Verasper variegatus	9, 12, 15, 18, 21	Natural spawing	26 Feb. 1999	20000	2

瀧ら, 2001）で計4～7回おこなった。3個体以上（湿重量約200～300g）をまとめて1サンプルとし，3サンプルずつを－80℃で凍結保存した。仔稚魚の魚体中の甲状腺ホルモン（チロキシン：T4および3,5,3′－トリヨードチロニン：T3）濃度の測定は，Tagawa and Hirano（1989）に従った。水温によるT4およびT3の最高濃度出現時期への影響を統計的に確認するため，各試験区の最高値をそれぞれTukey-Kramerの多重範囲検定法を用いて有意差（$P<0.05$）を検定した。

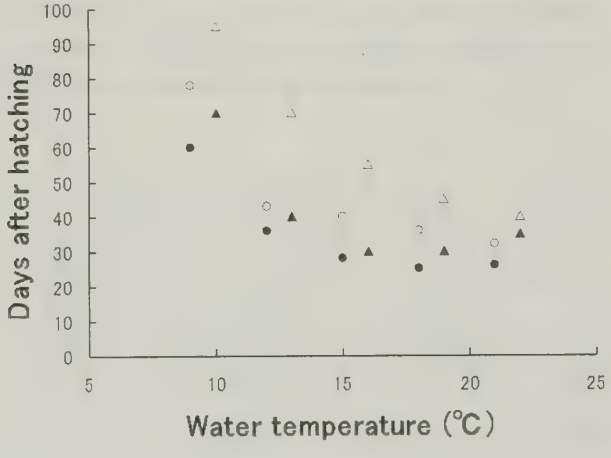
変態に要した期間（変態期間）を各水温間で比較するため，ステージG（変態開始）とステージI（同終了）が最初に出現したふ化後日数を記録した。試験終了時には，全ての魚を取り揚げ，Fig. 1-2（ホシガレイ）およびFig. 1-6（マガレイ）に従って正常魚，白化魚，両面有色魚にタイプ分けを行った。

結果

変態期間

変態期間は，飼育水温が上昇するにつれてより早く，かつ短くなった（Fig. 4-1）。即ちマガレイでは21℃の23～29日（6日間）から9℃の54～78日（24日間），ホシガレイでは21℃の35～40日（15日間）から9℃の70～95日（40日間）となった。変態の開始には2種間では大きな差はなかったが，変態終了までの期間はホシガレイで長い傾向が認められた。

Fig. 4-1. Relationship between water temperature and duration of metamorphosis brown sole *Pseudopleurinectes herzensteini* (●, ○) and spotted halibut *Verasper variegatus* (▲, △). Solid symbols (●, ▲) indicate the appearance of stage G (early phase of metamorphosis), and open symbols (○, △) indicate that of stage I (completion of metamorphosis). Developmental stages are after Aritaki *et al.* (2001).



変態後の形態

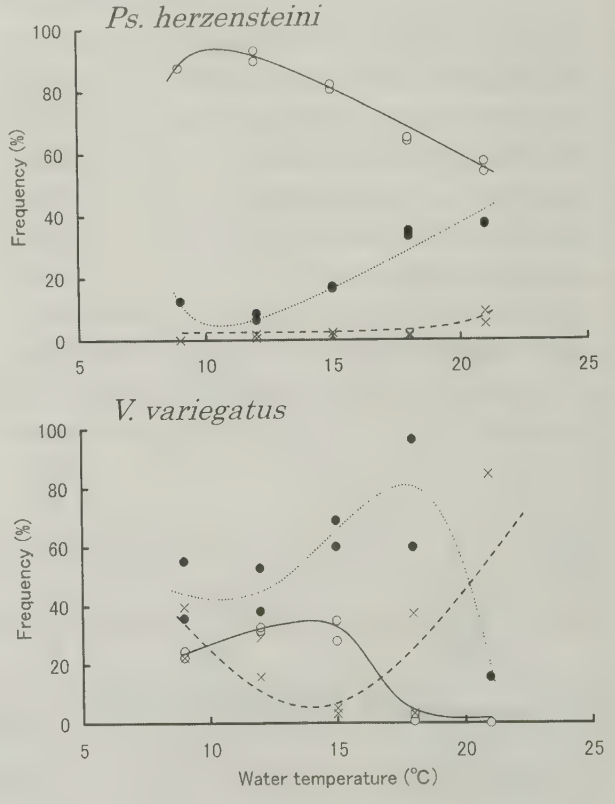
マガレイにおける正常，白化，両面有色各タイプの出現率は，第三章の試験1，2（Fig. 3-5）と同様の傾向を示した。白化魚は水温12℃，正常魚は21℃で最高値となったが，両面有色魚は全般に出現率が低かった（Fig. 4-2）

ホシガレイでは正常魚が18℃，白化魚が12℃，両面有色魚が21℃近辺で最高値を示した（Fig. 4-2）。

変態期における甲状腺ホルモンの動態

1） マガレイ　体組織中のT4濃度は，水温により異なった変動を示した。各水温における最高T4濃度は水温が高いほど早く現れる傾向があり，水温9℃ではふ化後60日，18℃および21℃では27日と29日であった（Fig. 4-3）。一方，各水温におけるT4濃度の最高値は，21℃で16.1ng/g bodyweight（BW），18℃で30.8ng/g BW，15℃で36.1ng/g BW，12℃で40.6ng/g BWおよび9℃で36.0ng/g BWと高水温ほど低い傾向があった。多重比較を行った結果，12℃と21℃の値に有意な差が認められた。

Fig. 4-2. Relationships between rearing temperatures and frequency occurrences of Type A (normal : ●), Types B and B′ (pseudoalbino : ○), and Type C (ambicolorate : ×) juveniles in the laboratory-reared brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* and spotted halibut *Verasper variegatus* juveniles.



体組織中のT3はT4に比べて低い濃度で推移したが，T4同様最高値は高い水温ほど早い傾向が認められた（Fig. 4-3）。各水温におけるT3の最高値はそれぞれ，21℃で5.0 ng/g BW（ふ化後29日），18℃で3.8 ng/g BW（24日），15℃で5.7 ng/g BW（35日），12℃で1.4 ng/g BW（43日），9℃で2.0 ng/g BW（78日）であり，水温の高低とT3の最高濃度の間には明らかな関係は見いだせなかった。また，それぞれの値の間には有意な差は認められなかった。

一方，T4の濃度と発育ステージの進行にも明らかな傾向が認められ，最高値はいずれの水温においてもステージF（変態初期），またはステージG（変態中期）に確認された（Fig. 4-4）。T3はT4に比べ低い濃度で推移し，最高値の出現には一定の傾向は認められなかった。

2） ホシガレイ　体組織中のT4濃度は，マガレイと同様に，水温により異なった変動を示した。各水温におけるT4の最高濃度は水温が高いほど早く現れる傾向があり，水温9℃ではふ化後79日，18℃および21℃では37日と39日であった（Fig. 4-5）。一方，各水温に

Fig. 4-3. Changes in thyroxine (T_4) and 3,5,3′-triiodothyronine (T_3) concentrations in tissue during metamorphic phase of brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* reared at different temperatures. Maximum T_4 level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P<0.05$). Vertical lines represent mean ± standard errors of three pooled samples.

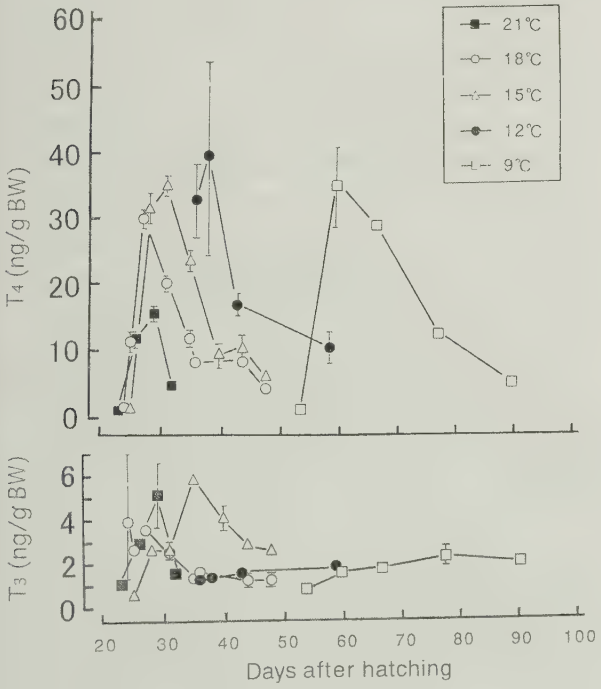


Fig. 4-4. Changes in thyroxine (T_4) and 3,5,3′-triiodothyronine (T_3) concentrations in tissue based on developmental stages in brown sole *Pseudopleuronectes herzensteini* reared at different temperatures. Maximum T_4 level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P<0.05$). Vertical lines represent mean ± standard errors of three pooled samples.

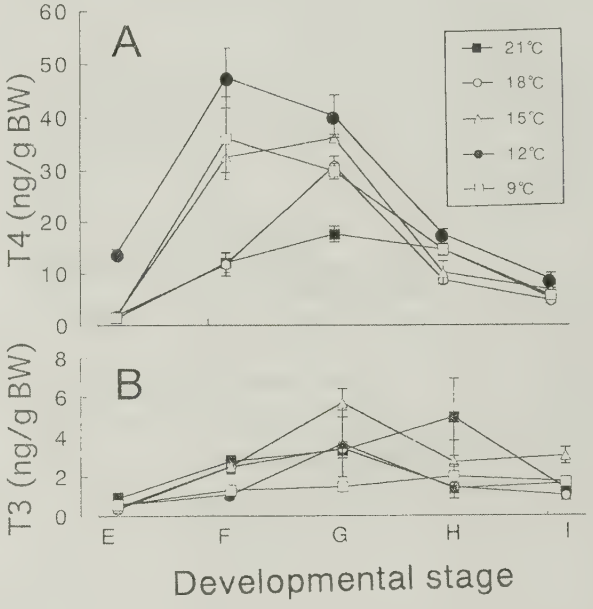


Fig. 4-5. Changes in thyroxine (T_4) and 3,5,3′-triiodothyronine (T_3) concentrations in tissue during metamorphic phase of spotted halibut *Verasper variegatus* reared at different temperatures. Maximum T_4 level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P<0.05$). Vertical lines represent mean ± standard errors of three pooled samples..

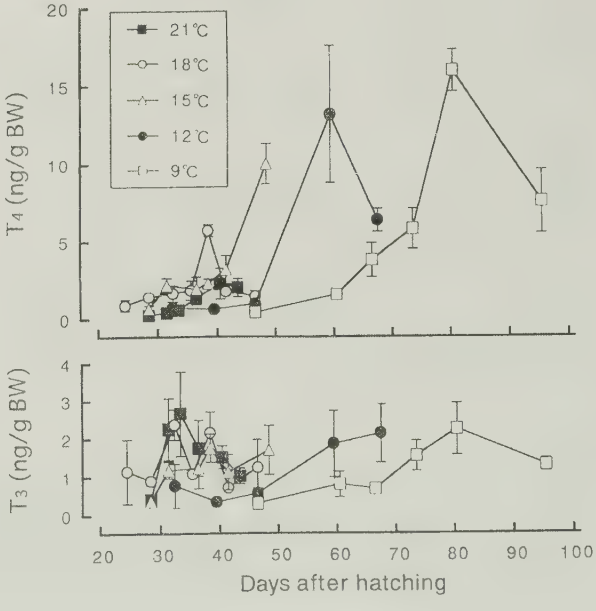
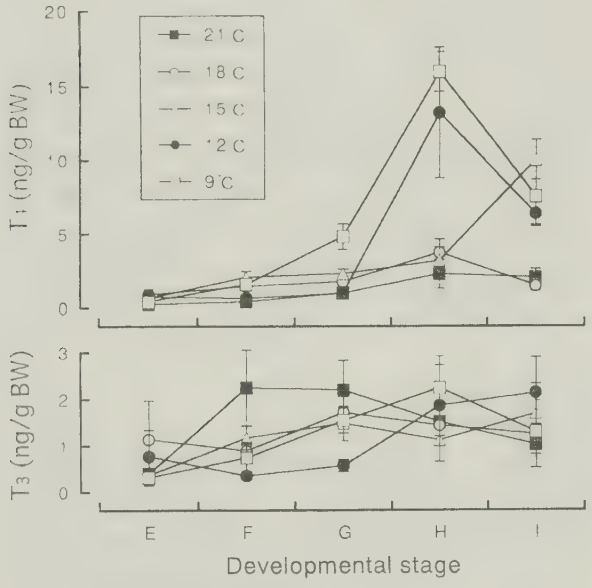


Fig. 4-6. Changes in thyroxine (T_4) and 3,5,3′-triiodothyronine (T_3) concentrations in tissue based on developmental stages in spotted halibut *Verasper variegatus* reared at different temperatures. Maximum T_4 level at 12℃ was significantly higher than that at 21℃ ($P<0.05$). Vertical lines represent mean ± standard errors of three pooled samples.



おける T4濃度の最高値は，それぞれ，21℃で2.3ng/g BW，18℃で5.7ng/g BW，15℃で10.0ng/g BW，12℃で13.2ng/g BW，および 9 ℃で15.9ng/g BW と高い水温ほど低い傾向があった。多重比較を行った結果，9 ℃と21℃の間で有意な差が認められた。

体組織中の T3は T4に比べて低い濃度で推移したが，そのピークは高い水温ほど早い傾向が見られた。T3濃度の最高値はそれぞれ，21℃で2.7 ng/g BW（ふ化後32日），18℃で2.4 ng/g BW（31日），15℃で1.7 ng/g BW（37日），12℃で2.1 ng/g BW（66日），9 ℃で2.2ng/g BW（79日）となった。それぞれの値の間には有意な差は認められなかった。

マガレイと同様に，T4濃度の増減と発育ステージには明らかな傾向が認められ，最高値は15℃（ステージ I：変態完了期）を除いてステージ H（変態終期）に確認された（Fig. 4-6）。T3は T4に比べ低い濃度で推移し，その最高値の出現も一定の傾向は認められなかった

考察

前章でも述べたが，カレイ科魚類の発育過程は高い水温ほど促進された（Figs. 3-8, 3-9）。今回の試験においても，マガレイとホシガレイの変態期は高い水温ほど早期に認められた。また，両種とも変態期間は低い水温では長く，高い水温で短かった。

マガレイおよびホシガレイにおける体組織中の T4は，水温が高いほど濃度の最高値は低く，また早期に出現した。このような飼育水温と発育が T4濃度の変動に及ぼす影響はヒラメ（Tanangonan *et al.*, 1989）でも観察されており，マガレイやホシガレイと同様，T4濃度の最高値と変態期は高い水温ほど早く見られている。しかし，設定した水温が15℃と22℃のみであったためか，T4濃度の最高値には水温間で有意な差は認められていない。

甲状腺ホルモンはヒラメ（Inui and Miwa, 1985）や summer flounder（Schreiber and Specker, 1998）の変態を制御していることが報告されている。本研究では，同じ水温で飼育したにもかかわらず，マガレイがホシガレイよりも早期にかつ短い日数で変態が完了した。また，T4の最高値はマガレイではふ化後27～60日に見られたのに対し，ホシガレイでは37～79日と全ての水温において遅かった。このように，両種において変態時期と T4濃度の最高値の出現時期には関連が窺われ，マガレイとホシガレイにおいても甲状腺ホルモンが変態を制御している可能性が強く示唆された。

いずれの水温でも T4濃度の最高値はマガレイでは変態初期か中期に，ホシガレイでは，変態終期もしくは完了期に認められた。また，その値はマガレイでは16～40ng/g BW であったのに対しホシガレイでは 2～16ng/g BW と明らかに低かった。一方，ヒラメでは異なった水温で飼育しても T4濃度の最高値は変態完了期に認められ，およそ15 ng/g BW とホシガレイの T4濃度とほぼ同じであった（Tanangonan *et al.*, 1989; Tagawa *et al.*, 1990）。マガレイはカレイ科魚類の中では小さな10mm 以下のサイズで，水深25～40m とやや沿岸から離れた水域において着底する（有瀧・與世田, 1994）。これに対し，ホシガレイやヒラメは波打ち際近くのごく沿岸域を着底場とし，着底サイズも15mm 前後とマガレイより大きい（内田, 1933；今林, 1980；南, 1982）。異体類の変態は，着底場や着底サイズなど生活戦略的な要素と深く関わっており（Minami and Tanaka, 1992），変態に深く関与する甲状腺ホルモンの動態もこれら生態的な特性と関連している可能性が高い。

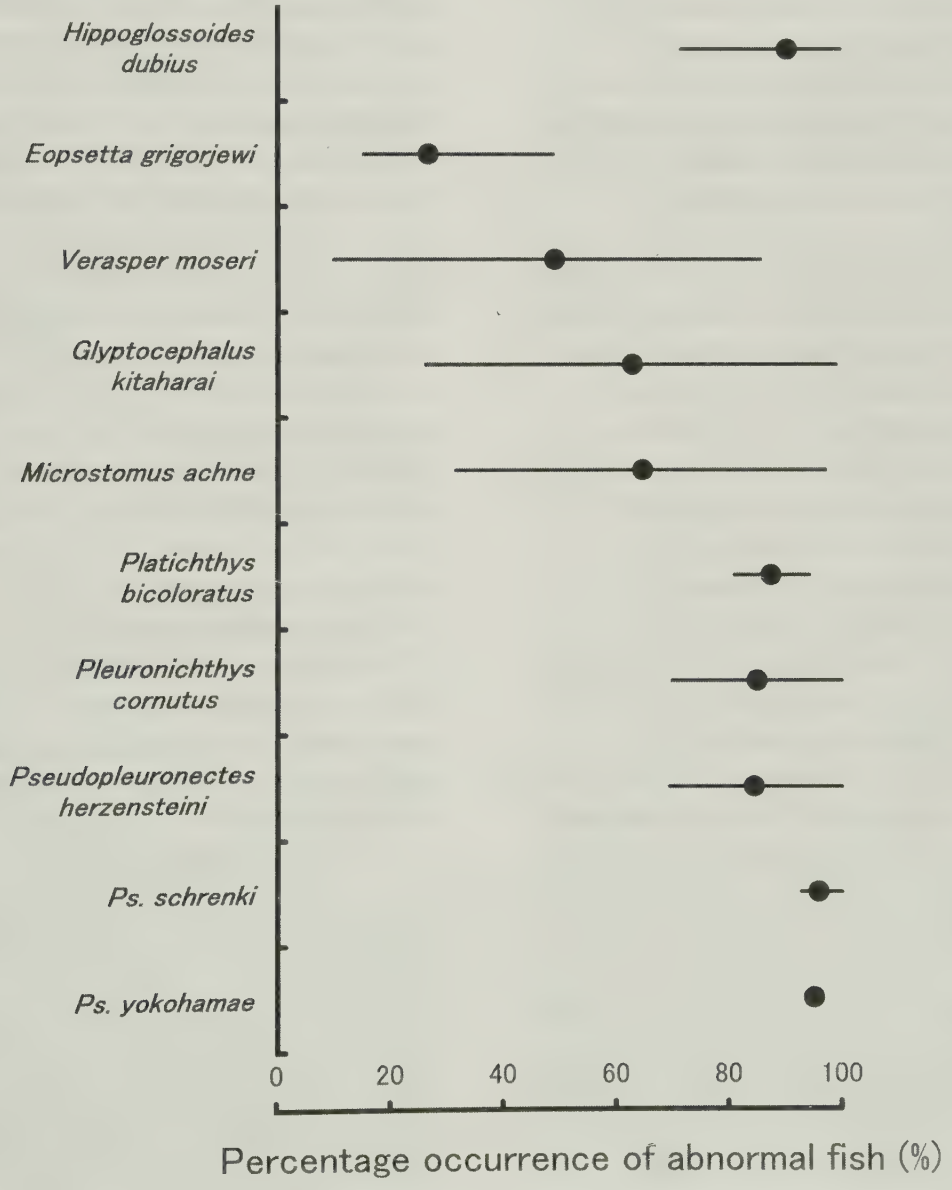
カレイ科魚類における白化や両面有色等は，変態時の左右不相称化の異常，すなわち変態の異常であることを先に述べたが，変態そのものが甲状腺ホルモンによって制御されている以上，これらの現象にも同ホル

モンが関与していると予想される。本章の試験においてマガレイおよびホシガレイのT4濃度の最高値は，水温の上昇とともに早く認められ，両種の両面有色魚の出現率も高い水温で増加した。一方，マガレイとホシガレイの白化魚が多く出現した12℃では，T4濃度は他の水温よりも高い傾向を示した。本研究では，飼育魚の発育を天然魚に近似させることで，正常魚が多く出現する，即ち正常な変態が起こると推察した。今回，各水温のT3の動態は2魚種とも全体に低いレベルで推移し，水温との関係が明瞭でなかったが，T4は両種とも高水温ほど最大値が低くなる傾向が認められた。また，組織中のT4濃度は仔魚の発育進行に伴って有意に変動したが，高水温ほど早期に認められた。甲状腺ホルモンが，飼育魚の変態後の形態の決定に関与しているとすると，白化や両面有色の出現動態は，これら組織内の濃度もしくは，ピークの時期に大きく影響されている可能性が高い。

第5章　総合考察；変態異常の防除と発現の機序

これまでに本研究では，カレイ科魚類の変態異常が，変態に伴った左右不相称分化の異常であること，およ

Fig. 5. Percentage occurrence of abnormal fish in 10 species of hatchery-reared Pluronectidae. Horizontal bar represents range. (after Japan Sea-Farming Association, 1983-1990).



びその決定時期が変態直前に存在することを明らかにした。また，上記変態異常の発現が仔魚期の発育や甲状腺ホルモンの動態に深く関わり，その種に固有の発育速度と異なった速度で発育した場合に多発すると推察した。ここでは，これまでの結果を総合的にとりまとめ，カレイ科魚類における変態異常の防除法やその発現機序の一端について言及する。

カレイ科魚類における変態異常発現の防除

カレイ科魚類の変態異常に関して序章および第一章において概説したが，Fig. 5に昭和58年から平成２年に日栽協で飼育したカレイ科魚類10種における変態異常魚の出現率をまとめた（㈳日本栽培漁業協会, 1983-1990）。ムシガレイとマツカワで27％および50％と比較的低い変態異常の出現率を示した以外は，いずれも50％以上であった。また図から明らかなように，80％以上のきわめて高い変態異常の出現率を示す種が半数を占めていた。このようなカレイ科魚類の変態異常は，種苗生産技術の進展を阻む大きな原因となっており，上記10種のうち平成14年度に技術開発が行われているのはマツカワのみである（㈳日本栽培漁業協会, 2003）。また，現在までに全国の種苗生産機関で栽培対象種として取り上げられたカレイ科魚類は11種である（序章参照）。しかし，平成14年度には５種に減少しており（水産庁・㈳日本栽培漁業協会，2003），その５種でさえも変態異常の多発は今なお大きな問題として検討され続けている（北海道，青森県，岩手県，宮城県，福島県，千葉県，大阪府，2003）。

本研究でマガレイ，ホシガレイ，ババガレイをそれぞれ数段階の水温で飼育した結果，水温ごとの正常魚や白化魚，両面有色魚の出現パターンが種ごとに大きく異なることを明らかにした（Figs. 3-5～3-7）。また，著者らはマガレイにおいてアルテミアノープリウスの早期給餌と正常魚出現率の増加が連動することを確認しているが，その場合も発育・成長の促進が認められている（有瀧ら, 1996）。ヒラメでは同じ水温で飼育を行っても，疾病の発生や飼育の失敗による成長の遅延があった場合には白化魚の増加が起こることが報告されている（高橋, 1992）。以上のことは異体類における正常魚や変態異常魚の出現が水温の差異そのものではなく，水温の差異に由来した仔魚期の発育の差異に大きく影響されることを改めて示唆している。

今回，マガレイとホシガレイではある一定の速度まで発育を促進させるほど，一方ババガレイでは遅延させるほど正常魚が多く出現した。また，正常魚を出現させる発育の速度は天然海域で各魚種が示す発育速度に近似すると推察された。一方，仔魚期の発育と白化や両面有色等の変態異常発現には，魚種特有のパターンが存在した。すなわち両面有色魚は３魚種全てで天然魚より成長が早い場合に，白化魚はマガレイとホシガレイでは天然魚より発育が遅い場合に，ババガレイでは正常魚と両面有色魚が多く出現する中間の成長速度で，それぞれ出現のピークが認められた。マコガレイでも両面有色魚は正常魚が多く出現するよりも高い水温で，逆に白化魚は低い水温で多く出現することが明らかにされている（睦谷，1988）。

以上のことから推察すると，両面有色魚の出現が多い場合には水温操作等により成長を抑制，逆に白化魚が多い場合には魚種により異なるが成長を抑制（ババガレイ）あるいは促進（マガレイ，マコガレイ，ホシガレイ）することにより，多くのカレイ科魚類の変態異常を防除することが可能であろう。一方，どの魚種においても正常魚の発現が多かった成長速度が天然仔魚の発育速度とよく近似した．即ち，カレイ科魚類の変態異常を防除するためには，対象種の天然での初期生態，特に変態までの期間を正確に把握し，それに準じて飼育を行うことが最も重要となろう。これまでの知見から異体類の変態サイズと変態までの期間には一定の傾向が認められる。一般に，沖合生息種ではサイズは大きく浮遊期も長い。逆に沿岸生息種ではサイズは小さく，浮遊期も相対的に短い（Minami and Tanaka, 1992）。従って，天然海域で変態までの期間が明らかにされていないカレイ科魚類を飼育する場合は，沖合種は水温等により成長を遅延することで，沿岸生息種は促進させることでそれぞれ変態異常の出現を防除できる可能性があると考えられる。

飼育した魚に見られる形態異常は，本研究で扱ったカレイ科魚類の変態異常の他にサケ *Oncorhynchus keta* やニジマス *O. mykiss*，コイ *Cyprinus carpio*，ソウギョ *Ctenopharyngodon idellus*（竹内，1991），アユ *Plecoglossus altivelis*（駒田，1974；竹内，1991），ニシン *Clupea pallasii*（山本，2001）マダイ（福原，1977；隆島，1978；宗清ら，1985；後藤，1986），クロダイ（松岡，2000），イシダイ *Oplegnathus fasciatus*（清水・藤田，1985），ヒラメ（Dedi *et al*., 1997; 福永，1998；Haga *et al*., 1999），マガレイ（早乙女・有瀧，1988）などさまざまな魚種で報告されている。これらの形態異常は，A）椎骨を含めた骨異常（駒田，1974；Dedi *et al*., 1997；福原，1977；隆島，1978；清水・藤田，1985；早乙女・有瀧，1988；竹内，1991；Haga *et al*., 1999；山本，2001）と，B）胸鰭（宗清ら，1985）や鼻孔隔皮（後藤，1986；松岡，2000），無眼側の体色（福永，1998；加治・福永，1999）等の外部形態異常の２つに大別が可能である。骨異常は，初期餌料の栄養欠乏および過剰（竹内, 1991）や鰾の未発達（北島ら，

1977）が原因とされており，防除対策もほぼ確立している。一方外部形態の異常は，魚体に与える影響が軽微（宗清ら，1985）であることや出現率が極めて高い（宗清ら，1985；岩本ら，1998；山崎，1998）ため放流魚の標識として利用されている側面もあるが，防除方法や発現の機序に関しては未解決の部分が多い。しかし近年では，マダイの鼻孔隔皮欠損とヒラメの無眼側体色異常については，水温の上昇や餌料の量的な改善によって発育・成長を促進することで防除効果が確認されている（山田, 1997；茨城県水産試験場他, 2003）。マダイは，仔魚から稚魚への移行期（変態期）に体色や体型など外部形態（Fukuhara, 1992）や消化器官（田中, 1975），生活様式（Kinoshita and Tanaka, 1990）に大きな変化が認められ，鼻孔隔皮もこの時期に形成される。また，ヒラメの正常魚では右体側（無眼側）の幼型黒色色素は変態期に消失するが，無眼側の体色異常はその消失過程が正常に進行しなかった結果である（青海, 1997）。このように考えてくると，マダイの鼻孔隔皮欠損やヒラメの無眼側体色異常も変態の異常である可能性が高い。さらに，両種とも飼育条件下では仔稚魚の発育・成長が天然魚に比較して大きく劣ることも明らかにされている（Seikai *et al.*, 1986；田中, 1993）。すなわち，前述の発育・成長の促進によるマダイやヒラメの形態異常防除は本研究のカレイ科魚類における変態異常防除と本質的には同様の方法論と位置づけることができる。多くの魚種では飼育魚の成長は天然魚に比較して劣るため，飼育水温や餌料改善で成長を促進することにより，正常魚の出現を増加させることが可能になると推測する。今後，カレイ科魚類の変態異常だけでなく，飼育魚類の形態異常全般に関して“変態”や“発育”という観点から飼育技術を再度検討することも重要となろう。

現段階でカレイ科魚類の発育を制御する方法としては，水温の操作が最も簡便である。しかし，本研究において，マガレイやホシガレイの正常魚を多く出現させた水温の18～21℃では，両種とも生残率が明らかに低下した（Fig. 3-1）。一方，両種の仔稚魚の天然海域における生息水温は10℃以下（内田，1933；富永ら，1991）であり，マガレイを水温24℃で飼育するとごく初期に全滅する。即ち，両種の正常魚出現にとっての最適飼育水温は生息限界水温に近く，飼育困難な水温でもある。

また，ババガレイでは水温が低いほど正常魚の出現率は増加したが，試みた最も低い飼育水温の9℃でも正常魚の出現率は60%しかなく，マガレイやホシガレイに比べ低かった。本種では，飼育水温をさらに下げることにより，正常率が高くなる可能性もある（Fig. 3-7）。しかし，18℃前後で培養するワムシや約25℃でふ化させるアルテミアノープリウスの活力が低下するため，仔魚の摂餌不良や死亡の原因となる（有瀧ら，1996）ことも考慮する必要がある。

先に，マガレイ（有瀧ら，1996）やヒラメ（茨城県水産試験場他，2003）では給餌量や給餌方法の検討により発育・成長が促進されることを紹介したが，この他にも飼育照度の調整（有瀧；未発表）や生物餌料のタウリン強化（朴ら，2001）などがホシガレイやヒラメで試みられている。これらの方法でも発育は促進されるが生残率の低下は認められていない。今後は，まず水温操作以外の方法で仔魚の発育を促進する技術を開発し，次にそれを用いて変態異常の防除が可能であるかを確認する必要があろう。

第二章で，マガレイおよびホシガレイでは変態直前のステージE～Fには変態後の形態が確定していることを明らかにした。このことから，これまでに述べてきた変態異常の防除対策は，ステージE～Fまでに施す必要がある。しかし本研究では，仔魚期のどの発育期が変態後の形態決定に最も重要であるかは明らかにできていない。形態異常の防除手法を効果的に実施するためにも，今後はさらに詳細な知見を収集しこの点を明かにすることが重要である。

変態異常の発現の機序と残された課題

異体類の起源は古く，およそ4500～5000万年前の地層（第三紀始新世層）から現生種とほぼ同様の形態を持つ化石が発掘されており（落合, 1966；沖山, 1984），本グループの特徴である左右不相称は非常に古い歴史的背景を持ち，継続されてきたことが伺える（沖山, 1984）。これら異体類の変態に関して，ヒラメ（Inui and Miwa, 1985; Tanagonan *et al.*, 1989; Yoo *et al.*, 2000a）やsummer flounder（Schreiber and Specker, 1998），ホシガレイ（堀田ら，2001a；本研究）では，甲状腺ホルモンが中心的な制御を行っていることが解明された。現在，著者らはホシガレイとヌマガレイの仔魚を用いて濃度と時期を変えたT4の浸漬試験を行っており，濃度よりもT4添加のタイミングが変態後の形態に影響を与えることを明らかにしつつある（田川ら，未発表）。ヒラメでは仔魚を異なったタイミングでT4に浸漬した実験から，ステージE～F（脊索末端の屈曲開始から完了期）でのT4処理が最も高い白化魚出現率を示すことが明らかになっている（Yoo *et al.*, 2000b）。おそらく異体類における変態異常には，それぞれの魚種が持つ種特異的な発育速度とそれに伴う甲状腺ホルモン分泌のタイミングが深く関わっていると予想される。即ち，変態異常の機構解明は正常変態そのものの機構解明に通じると考えられる。今後，変態

期における甲状腺ホルモン分泌の動態と変態完了後の形態との関わりについてさらに精査する必要がある。また，このような検討は異体類の変態を外的要因と内的要因の関わりから理解する上でも重要なアプローチとなろう。

これまでカレイ科魚類の変態異常に関する一連の研究結果を整理してきた。変態異常は変態期における左右不相称分化の異常とも位置づけられるが，近年では分子生物学的手法を用いて変態期におこる異体類の左右不相称性の発現を遺伝子レベルで解析することが試みられている（Yamano *et al.*, 1994; Yamano *et al.*, 1995; Hashimoto *et al.*, 2002）。先に述べたように，変態異常は甲状腺ホルモンの動態と密接に関係する可能性が高い。甲状腺ホルモンは細胞内の受容体と結合し遺伝子発現の活性化，不活性化を制御するが，ヒラメでは受容体遺伝子の発現動態が明らかにされている（Yamano *et al.*, 1994; Yamano *et al.*, 1995；山野，1997）。また，ヒラメの胚発生期に生ずる左右性決定遺伝子の解析（Hashimoto *et al.*, 2002）をもとに，変態期の左右性決定機構の検討も始められている（鈴木，2003）。Seikai *et al.*(1993) が行ったヒラメの受精卵を用いた細胞培養実験から，変態時に有眼側に発現する稚魚型黒色色素胞は甲状腺ホルモンの影響なしに出現する可能性がある。また，前述のヒラメ仔稚魚を甲状腺ホルモンに浸漬する実験では，白化魚の出現が促進された（Yoo et al., 2000b）。これらの結果は，T4が有眼側化ではなく，無眼側化を誘導していることを強く示唆している。カレイ科魚類の変態では，両側有眼側化（両面有色）あるいは無眼側化（白化）および正常化がおこる素地のようなものが魚種によってある特定の発育速度でそれぞれ準備され，甲状腺ホルモンの分泌時期と密接に関連して発現してくると推察される。変態後の形態を発育過程における T4と受容体の出現や連動する遺伝発現の消長と関連づけること，さらにこれらの発現部位を詳細に解明すること等により，カレイ科魚類の形態異常や変態の発現機序の本質をより深く知ることが可能になるはずである。遺伝子レベルでの変態機構の解明は，飼育条件下で今なお多発する変態異常の防除技術を一層進展させ，カレイ科魚類を含めた異体類の栽培技術の向上に大きく寄与すると考えられる。

謝　辞

本研究を遂行するにあたり，終始懇切なるご指導とご校閲を賜った京都大学フィールド科学教育研究センター教授　田中　克博士（現名誉教授）に深甚なる感謝の意を表します。また，本論文のご校閲を頂き，貴重なご意見を賜った同大学フィールド科学教育研究センター教授　山下　洋，同助教授　田川正朋両博士（現同准教授）に厚くお礼申し上げる。

研究の端緒からご指導を賜り，研究を進めていく上で有益なご助言を頂いた独立行政法人　水産総合研究センター日本海区水産研究所部長　南　卓志博士（現福山大学教授），福井県立大学海洋資源生物学科教授　青海忠久博士，高知大学海洋生物教育研究センター教授　木下　泉博士，元日本栽培漁業協会常務理事　須田　明博士に衷心よりお礼申し上げます。

マツカワ飼育魚の標本を快く提供して下さった北海道立栽培漁業総合センター　萱場隆昭氏（現地方独立行政法人　北海道立総合研究機構水産研究本部釧路水産試験場主査），クロガシラガレイ飼育魚の標本を快く提供して下さった北海道別海漁協ニシン種苗センター所長　加畑裕康氏に心から感謝の意を表します。ホシガレイの飼育試験では，京都大学農学研究科　堀田又治（現 Mizuno），和田敏裕（現福島県水産試験場相馬支場副主任研究員）両氏に様々なご協力を賜りました。重ねてお礼申し上げます。

長期間にわたり研究の機会と種々の便宜を与えて頂いた元日本栽培漁業協会理事長　今村弘二氏をはじめ歴代の役員の方々に深謝する。また，元独立行政法人　水産総合研究センター理事　古澤徹（現㈱全国豊かな海づくり推進協会技術顧問），今村茂生両氏には進まぬ研究のため大変ご迷惑をお掛けしたにも関わらず，終始示唆に富んだご指導，ご助言を賜った。ここに記して謝意を表したい。独立行政法人　水産総合研究センター五島栽培漁業センター場長　虫明敬一博士（現西海区水産研究所まぐろ増養殖研究センター長），同八重山栽培漁業センター場長　與世田兼三博士（同業務推進部長），同主任研究官　濱崎活幸博士（現東京海洋大学准教授）には，当初より暖かい激励と有益なご意見を頂いた。謹んで感謝の意を表する。

本研究の実行及び取り纏めには，独立行政法人　水産総合研究センター能登島栽培漁業センター（現日本海区水産研究所能登島庁舎）及び同宮古栽培漁業センター（現東北区水産研究所宮古庁舎）の場長をはじめ職員諸氏には絶大なる協力を頂いた。心よりお礼申し上げる。

引用文献

Amaoka K., 1964: First record of sinistrality in Poecilopsetta plinthus (Jordan and Starks), a Pleuronectid fish of Japan. *Bull. Misaki Mar.*

Biolo. Inst. Kyoto Univ., **7**, 9-17.

有瀧真人，與世田兼三，1994：新潟県沿岸域におけるマガレイの着底場および成育場．日水誌，**60**，29-34.

有瀧真人，1995：カレイ類の変態と形態異常．月刊海洋，**27**，732-739.

有瀧真人，青海忠久，小林真人，1996：マガレイ仔魚の高水温飼育とアルテミア幼生早期給餌による形態異常の出現防除．日水誌，**62**，857-864.

有瀧真人，鈴木重則，渡辺研一，2000：飼育したマツカワ仔稚魚の形態発育と成長．日水誌，**66**，446-453.

有瀧真人，太田健吾，堀田又治，田中　克，2001：ホシガレイ飼育仔稚魚の形態発育および成長．日水誌，**67**，58-66.

有瀧真人，田中　克，2003：ババガレイ飼育仔稚魚の形態発育および成長．日水誌，**69**，602-610.

有山啓之，2000：大阪湾奥部で採捕されたマコガレイとイシガレイの色素異常個体について．大阪府水産試験場研究報告，**11**，49-52.

バロン，後藤　昇，1989：繁殖スタイルと初期個体発生「魚類の繁殖行動，その様式と戦略をめぐって」（後藤　昇・前川光司編）東海大学出版，東京，pp. 1-47.

Bolker J. A. and Hill C. R., 2000: Pigmentation development in hatchery-reared flatfishes. *J. Fish Biolo.*, **56**, 1029-1052.

Brewster B., 1987: Eye migration and cranial development during flatfish metamorphosis: a reappraisal (Teleostei: Pleuronectiformes). *J. Fish Biolo.*, **31**, 805-833.

Brothers EB., Mathews CP., and Lasker R., 1976: Daily growth increments in otoliths from larval and adult fishes. *Fish. Bull. U. S.*, **74**, 1-8.

Bürgin T., 1986: The syncranial morphology of the bastard sole *Microchirus theophila* (Risso, 1810) (Pleuronectiformes, Soleidae). *Neth. J. Zool.*, **36**, 117-161.

Campana SE., 1984: Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder *Platichthys stellatus*. *Can. J. Zool.*, **62**, 1507-1512.

Chambers R. C. and Leggett W. C., 1987: Size and age at metamorphosis in marine fishes: an analysis of laboratory-reared winter flounder (*Pseudopleuronectes americanus*) with a review of variation in other species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **44**, 1936-1947.

Chambers R. C. and Leggett W. C., 1992: Possible caces and consequences of variation in age and size at metamorphosis in flatfishes (Pleuronectiformes): an analysis at the individual, population, and species levels. *Neth. J. Sea Res.*, **29**, 7-24.

Coope J. A. and Chapleau F., 1998: Monophyly and intrarelationships of the family Pleuronectidae (Pleuronectiformes), with a revised classification. *Fish. Bull.*, **96**, 686-726.

Dawson C. E., 1962: Notes on anomalous American Heterosomata with descriptions of five new records. *Copeia*, **1**, 138-146.

Dawson C. E., 1967: Three new records of partial albinism in American Heterosomata. *Am. Fish. Soc.*, **96**, 400-404.

Dedi J., Takeuchi T., Seikai T., Watanabe T., and Hosoya K., 1997: Hypervitaminosis A during vertebral morphogenesis in larval Japanese flounder. *Fish. Sci.*, **63**, 466-473.

Dickey-Collas M., 1993: The occurrence of juvenile pigmentation abnormalities in place *Pleuronectes platessa* larvae fed on enriched and un enriched *Artemia salina* nauplii. *J. Fish Biolo.*, **42**, 787-795.

Estévez A. and Kanazawa A., 1996: Fatty acid composition of neural tissues of normally pigmented and unpigmented juveniles of Japanese flounder using rotifer and *Artemia* enriched in n-3 HUFA. *Fish. Sci.*, **62**, 88-93.

福原　修，1977：マダイ稚仔魚にみられた骨異常について．水産増殖，**25**，42-45.

Fukuhara O., 1992. Study on the development of functional morphology and behaviour of the larvae of eight commercially valuable teleost fishes. *Contributions to the Fisheries Researches in the Japan Sea Block*, **25**, 32-46.

福永辰廣，1998：ヒラメ無眼側体色異常防除技術開発の現状－日栽協プロジェクトチーム試験結果－「平成10年度栽培漁業技術研修事業基礎理論コース仔稚魚期の発育シリーズ No. 12」水産庁・㈳日本栽培漁業協会，東京.

福所邦彦，難波秀博，山本剛史，山崎芳恵，李　明哲，青海忠久，渡辺　武，1987：ヒラメ白化防除のためのマダイ卵の効果的給餌法．養殖水研報，**12**，1-7.

福所邦彦，1990 a：人工種苗ヒラメの白化現象と防除法（上）．水産の研究，**45**，42-46.

福所邦彦，1990 b：人工種苗ヒラメの白化現象と防除法（中）．水産の研究，**48**，62-69.

福所邦彦，1991：人工種苗ヒラメの白化現象と防除法（下）．水産の研究，**50**，55-57.

後藤政則，1986：養殖マダイにみられた鼻孔の形態異常について．栽培技研，**15**，87-88.

Haga Y., Takeuchi T., and Seikai T., 1999: Effect of retinoic acid on larval Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*, reared on *Artemia* nauplii. *SUISANZOUSHOKU*, **47**, 559-566.

Haga Y., Takeuchi T., and Seikai T., 2002: Influence of all-trans retinoic acid on pigmentation and skeletal formation in larval Japanese flounder. *Fish. Sci.*, **68**, 560-570.

Hamasaki K. and Morioka T., 2002: Effects of temperature on egg incubation period, and paralarval survival and growth of common octopus, *Octopus vulgaris* reared in the laboratory. *SUISANZOSHOKU*, **50**, 407-413.

花田勝美，福士　堯，1973：種苗生産マコガレイにおける色素異常とメラニン色素．青森県立中央病院医誌，**10**，6-11.

Hashimoto H., Mizuta A., Okada N., Suzuki T., Tagawa M., Tabata K., Yokoyama Y., Sakaguchi M., Tanaka M., and Toyohara H., 2002: Isolation and characterization of Japanese flounder conal line, reversed, which exhibits reversal of metamorphic left-right asymmetry. *Mech. Dev.*, **111**, 17-24.

北海道，青森県，岩手県，宮城県，福島県，千葉県，大阪府，2003：平成14年度資源増大技術開発事業報告書，魚類Ｃグループ．

堀田又治，有瀧真人，太田健吾，田川正朋，田中　克，2001a：ホシガレイ仔稚魚期における消化系の発達と変態関連ホルモンの動態．日水誌，**67**，40-48.

堀田又治，有瀧真人，田川正朋，田中　克，2001b：ホシガレイの初期生活史：飼育実験による変態・着底過程の解明．栽培技研，**29**，59-72.

Houde E. D., 1971: Developmental abnormalities of the flatfish *Acbirus lineatus* reared in the laboratory. *Fish. Bull.*, **69**, 537-544.

茨城県水産試験場，（財）茨城県栽培漁業協会，（財）温水養魚開発協会，2003：平成11～14年度ヒラメ黒化防除技術開発試験，報告書

今林博道，1980：体長組成から見たヒラメ稚仔の成育場における着底機構の推定．日水誌，46，419-426.

井上政昭，1988：幼生飼育　イセエビ「エビ・カニ類の種苗生産」（平野礼次郎編）恒星社厚生閣，東京，pp.119-133.

Inui Y. and Miwa S., 1985: Thyroid hormone induces metamorphosis of flounder larvae. *Gen. Comp. Endo.*, **60**, 450－454.

Inui Y., Miwa S., Yamano K., and Hirano T., 1994: Hormonal control of flounder metamorphosis. in "Perspectives in comparative endocrinology" (ed. by Davey K. G., Peter, R. E., Tobe, S. S.), National Research Council of Canada, Ottawa, pp. 408-411.

岩本明雄，大河内裕之，津崎龍雄，福永辰広，北田修一，1998：魚市場の全数調査に基づく宮古湾のヒラメ種苗放流効果の推定．日水誌，**64**，830-840.

岩井　保，1985：魚類「水産脊椎動物学Ⅱ」，恒星社厚生閣，東京，pp. 336.

香川県歴史博物館友の会博物図譜刊行会，2001：高松松平家所蔵　衆鱗図，第一帖．

加藤史彦，沖山宗雄，田島迪生，1974：日本海産マコガレイ属２種（マコガレイおよびマガレイ）の外部形態の比較と識別．日水研報告，**25**，63-87.

河村功一，細谷和海，1991：改良二重染色法による魚類透明骨格標本の作製．養殖研報，**20**，11-18.

加治俊二，福永辰廣，1999：ヒラメ種苗生産の現状と体色異常魚の価格等に関するアンケート結果について．栽培技研，**27**，67-102.

Kendall A. W., 1984: Early life history stages of fishes and their characters. in "Ontogeny and systematics of fishes" (ed. Moser H. G., Richards W. J., Cohen D. M., Fahay M. P., Kendall A. W., Richardson: S. L.), No.1, American Society of Ichthyologists and Herptetologists Special Publication, New York, pp. 11-23.

Kinoshita I. and Tanaka M., 1990: Differentiated spatial distribution of larvae and juveniles of the two Sparids, red and black sea bream, in Shijiki bay. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **56**, 1807-1813.

木下　泉，1993：砂浜海岸砕波帯に出現するヘダイ亜科仔稚魚の生態学的研究．高知大水研報，**13**，21-99.

北島　力，岩本　浩，藤田矢郎，1977：人工採苗マダイにおける鰾の未発達と脊柱屈曲の関係．長崎水試研報，**3**，23-32.

北島　力，林田豪介，下崎真澄，渡辺　武，1985：人

工採苗ヒラメの体色異常出現に対する微粒子飼料の抑制効果．長崎水研報，**11**，29-35.

北島　力，林田豪介，安元　進，1987：人工採苗メイタガレイの体色異常．長崎県水産試験場研究報告，**13**，17-23.

駒田各知，1974：変形アユの骨格系異常に関する研究．魚病研究，**8**，127-135.

Kyle H. M., 1921: The asymmetry, metamorphosis and origin of flat-fishes. *Phil. Trans. Roy. Soc.* BCCXI. 75-129.

前田経雄，2002：若狭湾西部海域におけるヒラメ仔稚魚の加入機構．博士論文，京都大学，京都.

松岡正信，2000：クロダイの鼻孔隔皮欠損症について．SUISANZOUSHOKU，**48**，675-676.

Markle DF., Harris PM., and Toole CL., 1992: Metamorphosis and an overview of early-life-history stages in Dover sole *Microstomus pacificus*. *Fish. Bull.*, **90**, 285-301.

松原喜代松，落合　明，岩井　保，1979：カレイ目，「魚類学（上）」，恒星社厚生閣，東京，pp. 353-358.

三木教立，谷口朝宏，浜川秀夫，1990：ビタミンA投与ワムシ給餌によるヒラメ白化防除．水産増殖，**38**，147-155.

南　卓志，1981：ササウシノシタの初期生活史．日水誌，**47**，857-862.

南　卓志，1982：ヒラメの初期生活史．日水誌，**48**，1581-1588.

Minami T. and Tanaka M., 1992: Life history cycles in flatfish from the northwestern Pacific, with particular reference to their early life histories. *Neth. J. Sea Re.* **29**, 35-48.

宗清正廣，傍島直樹，船田秀之助，1985：胸鰭の形状によるマダイ人工魚と天然魚の識別．栽培技研，**14**，79-84.

睦谷一馬，1988：人工飼育におけるマコガレイ仔稚魚の成長と変態について．水産増殖，**36**，27-32.

長倉義智，有瀧真人，1990：マガレイの形態異常魚の種苗性について．日本海ブロック試験研究集録，**19**，37-43.

中村弘二，飯田　遙，1986a：ヒラメの白化とリボフラビン含量との相関について．日水誌，**52**，275-1279.

Nakamura K., Iida H. and Nakano H., 1986b: Riboflavin in the skin of albinic flatfish *Liopsetta obscura*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **52**, 2207.

中西　孝，1988：幼生飼育　タラバガニ，「エビ・カニ類の種苗生産」（平野礼次郎編），恒星社厚生閣，東京，pp. 134-145.

Næss T. and Lie Ø., 1998: A sensitive period during first feeding for the determination of pigmentation pattern in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus L.*, juveniles: the role of diet. *Aquaculture research*, **29**, 925-934.

Norman JR., 1934: Albinism, Ambicoloration and Reversal: A systematic monograph of the flatfishes (HETEROSOMATA). The trustees of the British Museum, London, pp. 22-29.

置栖孟，遊佐多津雄，1979：成長に伴う歯数変化によるマガレイ *Limanda yokohamae* (Günther) とマガレイ *L. herzensteini* Jordan et Snyder の識別について．東北水研研究報告，**40**，27-36.

沖山宗雄，富　和一，1970：側面逆位で両面有色のアカガレイ．魚類学雑誌，**17**，84-85.

沖山宗雄，1974：ヒラメの初期生活史に関する研究－Ⅱ．稚魚期の形態および近縁種との比較．日本海区水産研究所報告，**5**，9-17.

沖山宗雄，1984：稚魚分類学入門⑪カレイ型変態．海洋と生物，**31**，89-96.

落合　明，1966：日本産シタビラメ魚類の形態ならびに生態に関する研究．京都大学みさき臨海研究所，**3**，1-95.

Pannella G., 1971: Fish otolith: Daily growth layers and periodical patterns. *Science*, **173**, 1124-1127.

Roberts R. j., Young H., and Milne J. A., 1971: Studies of skin of plaice (*Pleuronectes platessa L.*). *J. Fish Biolo.*, **4**, 87-98.

Sakamoto K., 1984: Interrelationships of the family Pleuronectidae (Pisces: Pleuronectiformes). *Memo. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **31**, 95-215.

朴　光植，竹内俊郎，青海忠久，横山雅仁，2001：飼料中のタウリンがヒラメ稚魚の成長および魚体内のタウリン濃度におよぼす影響．日水誌，**67**，238-243.

早乙女浩一，有瀧真人，1988：マガレイ人工種苗の体色異常と形態異常．栽培技研，**17**，9-17.

Schreiber AM and Specker JL., 1998: Metamorphosis in the summer flounder (*Paralichthys dentatus*): Stage-specific developmental response to altered thyroid status. *Gen. Comp. Endo.*, **111**, 156-166.

青海忠久，1979a：人工採苗ヒラメの飼育条件と体色異常個体の出現頻度．長崎水研報，**5**，9-17.

青海忠久，1979b：人工採苗ヒラメの体色異常に伴う脊椎骨および鱗の異常．長崎水研報，**5**，19-25.

青海忠久，1980：人工採苗ヒラメの体色異常に関連し

た初生鱗の発生様式．魚類学雑誌，**27**，249–255.

青海忠久，篠田正俊，1981：アルテミア給餌期間を異にした人工採苗ヒラメの体色異常出現率の変異．京都海洋センター研究報告，**5**，29–37.

Seikai T., 1985 a: influence of feeding periods of Brazilian *Artemia* during larval development of hatchery-reared flounder *Paralichthys olivaceus* on the appearance of albinism. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 521–527.

Seikai T., 1985 b: Reduction in occurrence frequency of albinism in juvenile flounder *Paralichthys orivaceus* hatchery- reared on wild zooplankton. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **51**, 1261–1267.

青海忠久，1985c: 人工採苗マコガレイの体色異常の出現に及ぼす飼育密度および水槽の色の影響．水産増殖，**33**，119–128.

Seikai T., Tanangonan J. B., and Tanaka M., 1986: Temperature influence on larval growth and metamorphosis of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* in the laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **52**, 977–982.

Seikai T., Watanabe T., and Shimozaki M., 1987 a: Influence of three geographically different strains of *Artemia* nauplii on occurrence of albinism in hatchery-reared flounder *Palarichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 195–200.

Seikai T., Matsumoto J., Shimozaki M., Oikawa A., and Akiyama T., 1987 b: An association of melanophores appearing at metamorphosis as vehicles of asymmetric skin color formation with pigment anomalies developed under hatchery conditions in the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Pigment Cell Res.* **1**, 143–151.

Seikai T., Shimozaki M., and Watanabe T., 1987 c: Estimation of larval stage determining the appearance of albinism in hatchery-reared juvenile flounder *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **53**, 1107–1114.

青海忠久，1990：異体類人工種苗の体色異常の発現機構に関する研究．健苗育成技術開発成果の概要　平成元年度．水産庁研究部研究課，東京，p. 8.

青海忠久，1991：ヒラメ幼魚の無眼側の着色に及ぼす光照射，有眼側の体色，および供試魚の由来の影響．水産増殖，**39**，173–180.

Seikai T., 1992: Process of pigment cell differentiation in skin on the left and right sides of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*, during metamorphosis. *Jap. J. Ichthyo.*, **39**, 85–92.

Seikai T., Hirose E., and Matusmoto J., 1993: Dual appearances of pigment cells from in vitro cultured embryonic cells of Japanese flounder: an implication for a differentiation-associated clock. *Pigment Cell Res.*, **6**, 423–431.

青海忠久，1997：体色異常発現機構，「ヒラメの生物学と資源培養」（南卓志・田中克編），恒星社厚生閣，東京，pp. 63–73.

㈳日本栽培漁業協会，1983：日本栽培漁業協会事業年報・昭和58年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1984：日本栽培漁業協会事業年報・昭和59年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1985：日本栽培漁業協会事業年報・昭和60年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1986：日本栽培漁業協会事業年報・昭和61年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1987：日本栽培漁業協会事業年報・昭和62年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1988：日本栽培漁業協会事業年報・昭和63年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1989：日本栽培漁業協会事業年報・平成元年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，1990：日本栽培漁業協会事業年報・平成２年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

㈳日本栽培漁業協会，2003：日本栽培漁業協会事業年報・平成15年度．㈳日本栽培漁業協会，東京.

清水弘文，藤田矢郎，1985：人工採苗イシダイの骨格異常．水産増殖，**33**，149–156.

首藤宏幸，池本麗子，加藤史彦，1988：志々湾におけるヒラメ放流種苗の減耗要因．マリーンランチング計画，ヒラメ・カレイプログレスレポート，**3**，167–176.

杉山元彦，中野　広，矢野　豊，福田雅明，村上直人，1985：異体類の健苗育成に関する研究－Ⅰ．白化等の異常個体出現率におよぼす注水量の影響について．北水研報告，**50**，63–69.

水産庁・㈳日本栽培漁業協会，2003：平成13年度栽培漁業種苗生産，入手・放流実績（全国）．㈳日本栽培漁業協会，東京，pp. 105.

鈴木　徹，2003：遺伝子の発現解析による形質の解明～種苗生産技術への応用～「平成14年度栽培漁業技術中央研修会テキスト集」．㈳日本栽培漁業協会，東京.

Tagawa M. and Hirano T., 1989: Changes in tissue

and blood concentrations of thyroid hormones in developing chum salmon. *Gen. Comp. Endo.*, **76**, 437-443.

Tagawa M., Miwa S., and Inui Y., 1990: Changes in thyroid hormone concentrations during early development and metamorphosis of flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.*,**7**, 93-96.

高橋庸一，1992：ヒラメの種苗生産における体色異常個体の出現と防除，体色異常防除試験結果報告（1986～1989年）．㈳日本栽培漁業協会，東京，pp. 58.

隆島史夫，1978：人工採苗マダイの椎骨形成異常について．日水誌，**44**，435-443.

竹内俊郎，1991：魚類における栄養素の欠乏症と要求量，「中央研修会テキスト，仔稚魚期の発達シリーズ」．㈳日本栽培漁業協会，東京．

Tanagonan J.B., Tagawa M., and Tanaka M., 1989: Changes in tissue thyroxine level of metamorphosing Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* reared at different temperatures. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 485-490.

田中　克，1975：消化器官，「稚魚の摂餌と発達」（日本水産学会編），恒星社厚生閣，東京，pp. 7-23.

田中　克，1986：稚仔魚の生態，「マダイの資源培養技術」（田中克・松宮義晴編），恒星社厚生閣，東京，pp. 59-74.

田中　克，1993：飼育魚と天然魚の比較，「放流魚の健苗性と育成技術」（北島力編），恒星社厚生閣，東京，pp. 19-30.

田中　克，1997：変態の生態的意義，「ヒラメの生物学と資源培養」（南　孝志・田中　克編），恒星社厚生閣，東京，pp. 52-62.

富永　修，梨田一也，前田辰昭，高橋豊実，加藤和範．1991：新潟県北部沿岸域におけるマガレイ成魚群の生活周期と分布．日水誌，**57**，2023-2031.

Toole CL., Markle DF., and Harris PM., 1993: Relationships between otolith microstructure, microchemistry, and early life history events in Dover sole, *Microstomus pacificus*. *Fish. Bull. U.S.*, **91**, 732-753.

Tsuji S. and Aoyama T., 1982: Daily growth increments observed in otoliths of the larvae of Japanese red sea bream *Pagrus major*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1559-1562.

Tsuji S. and Aoyama T., 1984: Daily growth increments in otoliths of Japanese anchovy larvae *Engraulis japonica*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, **48**, 1105-1108.

内田恵太郎，1933：本邦産異体類の変態期前後Ⅱ．ホシガレイ．動雑，**5**，268-277.

内田恵太郎，1963．魚類の変態，「脊椎動物発生学」（久米又三編），培風社，東京，pp. 115-122.

Veen J. F. De., 1969: Abnormal pigmentation as possible tool in the study of the populations of the plaice (*Pluronectes platessa L.*). *J. Cons. Int. Explor. Mer.*, **32**, 344-384.

山田作太郎，北田修一，1997：「生物資源統計学」，成山堂書店，東京，pp. 119-121.

山田徹生，1997：種苗生産技術の開発・マダイ．平成7年度日本栽培漁業協会事業年報．128-129.

山本義久，2001：種苗生産－形態異常，「ニシンの種苗生産技術，栽培漁業シリーズ　No. 7」，㈳日本栽培漁業協会，東京，pp. 52-56.

Yamano K., Arak K., Sekikawa K., and Inui Y., 1994: Cloning of thyroid hormone receptor genes expressed in metamorphosing flounder. *Dev. Gen.*, **15**, 378-382.

Yamano K. and Inui Y., 1995: cDNA cloning of thyroid hormone receptor β for the Japanese flounder. *Gen. Comp.* Endo., **99**, 197-203.

山野恵祐，1997：変態機構，「ヒラメの生物学と資源培養」（南　孝志・田中　克編），恒星社厚生閣，東京，pp. 74-82.

山崎明人，1998：マダイにおける胸鰭変形および鼻孔隔皮欠損による人工種苗放流魚と天然魚識別の有効性．栽培技研，**26**，61-66.

安永義暢，1972：ヒラメ稚仔消化器官の発達について．東海水研研究報告，**69**，75-89.

吉里勝利，1990：変態の生物学，「変態の細胞生物学」，東京大学出版，東京，pp. 1-11.

Yoo J. H., Takeuchi T., and Seikai T., 2000a: Sensitivity of the metamorphic events and morphogenesis of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* during larval development to thyroxine. *Fis. Sci.* **66**, 846-850.

Yoo J. H., Takeuchi T., Tagawa M., and Seikai T., 2000b: Effect of thyroid hormones on stage-specific pigmentation of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Zool. Sci.*, **17**, 1101-1106.

Youson J. F., 1988: First metamorphosis. in "Fish physiology" (ed. by Hoar W. S. and Randall D. J.), Vol. 11B, Academic Press, New York, pp. 135-196.

水研センター研報，第37号，199－203，平成25年
Bull. Fish. Res. Agen. No. 37, 199-203, 2013

和文要旨

仙台湾におけるダイオキシン類の収支と生物濃縮に関する研究

(Mass balance and bioaccumulation of major dioxins in Sendai Bay)

奥村　裕（東北区水産研究所）

ダイオキシン類は内分泌攪乱作用が疑われる有害化学物質であり，魚介類を通じた人体への蓄積が懸念されている。そのためゴミ焼却場などから排出されるダイオキシン類は，法律により排出量が規制された。しかし，現在も水田土壌から高濃度検出されており，河川などを通じた海洋環境への汚染，そして魚介類への生物濃縮が危惧されている。そこで，危機管理の観点から，陸上～沿岸海域におけるダイオキシン類の動態を明らかにすることが求められた。本研究では，仙台湾において海洋食物連鎖を通じたダイオキシン類の蓄積特性や，仙台湾に隣接する宮城県からの流入起源を明らかにし，ダイオキシン類の収支と生物濃縮に関する動態を解析した。本論文の内容は以下のようにまとめられる。

1．仙台湾の環境試料や魚介類中のダイオキシン類濃度を調べ，主な流入起源が農薬（クロロニトロフェンとペンタクロロフェノール）の不純物であることを明らかにした。仙台湾で優占したダイオキシン・ジベンゾフラン異性体は無脊椎動物に対し食物連鎖を通じ生物濃縮しやすく，一方魚類に対し生物濃縮しにくいこと，またコプラナーPCBは生物種を問わず生物濃縮しやすいことを明らかにした。全長が11.7～36.6cmのヒラメは，ダイオキシン・ジベンゾフラン濃度と体長との関係が明確でないのに対し，コプラナーPCB濃度と体長は正の相関があり，ヒラメの成長にともないコプラナーPCBが蓄積することを明らかにした。

2．海底土の柱状試料からダイオキシン類の歴史変遷を調べ，穀倉地帯である宮城県では過去に多くの農薬が使用され，堆積年代に関わらず農薬起源のダイオキシン異性体が優占すること，堆積したコプラナーPCBはPCB製品起源の割合が焼却灰起源に比べ高いことを明らかにした。ダイオキシン類の堆積量は分析を開始した1930年代から徐々に増加し1980年代後半に最大となり，その後減少したことを明らかにした。陸上では1970年代に，起源となる農薬やPCB製品の使用量がピークとなったことから，陸上に投入されたダイオキシン類が仙台湾海底へ堆積するまでに，10年以上かかることがわかった。

3．仙台湾に注ぐ一級河川水のダイオキシン類濃度を調べ，仙台湾の環境試料と同様に，主な起源が農薬の不純物であること，４つの一級河川の中で旧北上川からの流入量が最も多いことを明らかにした。また河川水量との関係を調べ，増水時に多くのダイオキシン類が仙台湾へ輸送されることが明らかとなった。河川水量の増加に伴い懸濁粒子量も増加しており，増水時に川底や水田に堆積していたダイオキシン類が再懸濁して仙台湾へ流入するメカニズムが示唆された。

4．宮城県内に投入された農薬起源のダイオキシン量を算出した。３種類の異性体（1,3,6,8-と1,3,7,9テトラクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン，オクタクロロジベンゾ-*p*-ダイオキシン）は農地へ計30.7t投入され，農薬の使用開始から40年以上経過した2000年代になっても，総投入量の約半分（17.4t）が分解されずに陸上に残存することを示した。一方，河川からの総流入量は約0.24tと計算され，仙台湾への流入量は農地への総投入量の１％弱とわずかであることを示した。仙台湾におけるダイオキシン類の年間収支を算出し，河川からの流入量のうち，約３kg/年（33%）が海底に堆積し，3.2g/年（0.04%）が有用魚介類に蓄積し，約6.2kg(68%)が湾外へ流出することを示した。

以上から，分解されずに陸上土壌に残存する農薬起源のダイオキシン類は今後も継続的に仙台湾へ流入するが，河川がボトルネックとなり流入量が制限されること，また流入量の多くは海底へ堆積するか湾外へ流出し，魚介類への蓄積は極めて少なく，将来的にもダイオキシン類が水産資源に及ぼす影響は低いと予測した。

亜熱帯海域における資源造成：シロクラベラにおける種苗放流技術の開発

佐藤　琢
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）
河端雄毅（長崎大学 水産・環境科学総合研究科）
奥澤公一（増養殖研究所南勢庁舎）
浅見公雄
（瀬戸内海区水産研究所海産無脊椎動物研究センター）
小林真人
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎）
山田秀秋
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）
福岡弘紀
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）
與世田兼三（西海区水産研究所長崎庁舎）
武部孝行
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター八重山庁舎）
平井慈恵（増養殖研究所志布志庁舎）
秋田雄一（沖縄県水産海洋研究センター石垣支所）

名波　敦
（西海区水産研究所 亜熱帯研究センター石垣庁舎）
太田　格（沖縄県水産海洋研究センター）
鈴木伸明
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）
千村昌之（北海道区水産研究所釧路庁舎）
青沼佳方
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）
加藤雅也（水産総合研究センター本部）
澁野拓郎（増養殖研究所 横須賀庁舎）
照屋和久
（西海区水産研究所亜熱帯研究センター石垣庁舎）

資源状態を改善する有効な手段として，間接的に資源の増加を図る漁業管理や育成場の造成・保護とともに，直接的に資源の増大や安定化を目指す種苗放流を行う「栽培漁業」が挙げられる。しかし，これまで熱帯，亜熱帯域において種苗放流によって資源添加，資源造成に成功した事例はなく，熱帯，亜熱帯域における栽培漁業の効果は明らかにされていない。シロクラベラ *Choerodon schoenleinii* は沖縄県で経済価値の高い水産資源であるが，近年，資源量は減少傾向にあり，早急な回復が望まれている。そこで西海区水産研究所亜熱帯研究センターでは，栽培漁業による本種資源の回復を目標に，熱帯・亜熱帯域における効果的な種苗放流技術の開発に取り組んできた。本稿では一連の研究によって得られた知見を整理し，本種をはじめとした，熱帯・亜熱帯域において低位水準にある沿岸資源の回復・維持管理方策について考察した。本研究では，まず体サイズの異なる種苗を放流することにより資源造成を試み，その中で本種の種苗放流による資源造成を阻む主要因として浮上してきた「被食」を如何にすれば軽減できるかについて，水槽実験やバイオテレメトリーを用いた放流実験によって調べた。その結果，1)種苗サイズの大型化や2)放流前の基質や巣穴への馴致，3)放流前の捕食者の学習が被食の軽減に有効であることが明らかになった。次に，より簡便に低コストで種苗放流による資源造成を目指す手段として，小型種苗放流の有効性について放流実験によって調べた。その結果，1)放流対象種の初期生態に基づき，適切と判断される体サイズや時期，場所（環境）での放流の重要性，2)密度効果による放流後の種苗の成長や摂餌等への悪影響を避けるために，環境収容力を考慮した適切な密度での放流が重要であることがわかった。今後，栽培漁業が熱帯，亜熱帯域の沿岸資源の回復へ貢献するには，効果的な放流技術の開発だけではなく，環境収容力の維持・創出や漁業管理といった間接的アプローチが同時に並行して行われるべきだろう。

南西諸島海域における仔魚パッチを追跡する手法を用いたクロマグロの初期生態に関する研究

佐藤圭介（国際水産資源研究所）

クロマグロの漁獲量の約７割を日本が占め，漁獲量の年変動が大きい。漁獲の多くは未成魚であるため，全体の漁獲量が本種の加入変動の影響を受けやすく，クロマグロの加入量は年によっておよそ６から10倍異なることが知られている。このため，本種の加入変動機構を研究することは，資源生態学的にも資源管理方策を検討する上でも重要である。多くの海産魚類において加入の年変動を決定づける時期は産卵されてから加入までの時期と考えられる。加入の年変動機構解明に関する研究は長い歴史を持ち，多くの仮説が提唱され，検証が繰り返されてきた。その過程で次第に解ってきたことは，加入変動は一つのメカニズムや要因で決まってはおらず初期生活史を通じて，多くの要素がともに働くということである。その要因は，種によって異なり，同じ種でも年によって異なり，同じ年でも産卵イベントごとに異なるのかもしれない。クロマグロ仔魚の産卵から加入までの初期生活史における減耗，輸送および拡散についての知見は断片的であり，環境要因と関連させた加入量の変動メカニズムは，ほとんどわかっていない。個体が生物環境（食物環境，捕食環境），物理環境（水温，流況）へ応答し，その結果，生残した個体数を足しあげたものが，その年級の加入量となる。本研究では，仔魚パッチを追跡する，パッチ研究と呼ばれる手法を採用した。連続的に目的生物を採集し，同時に生物的要因，物理的環境も測定することで，より明瞭な環境要因と仔魚の成長・生残との関係の把握が期待できるからである。

本論文は，クロマグロの加入変動機構の理解を深めるために，南西諸島海域において，クロマグロ仔魚パッチを追跡する手法を用いて，パッチの成長と生残と環境要因の関連を明らかにするものである。第２章ではパッチ研究の手法の妥当性，すなわち，クロマグロ仔魚パッチの発見と追跡が可能かについて論じた。第３章では，仔魚期の輸送と分布生態を把握し，適切な観測範囲および黒潮と中規模渦の加入過程における役割を議論した。第４章では，初期生活史において，成長の良否が加入変動に深く関わっていると考えられるので，成長と生残について詳しく述べた。

パッチ発見と追跡ブイのパッチ追跡能力

2004年から2008年の５月，６月において，南西諸島沖で７つのパッチを追跡ブイで標識し，最短28時間か

ら最長171時間，追跡した。これらのパッチには発見順に続き番号で呼称した。追跡した7つのパッチは発見までに平均52回（6から80回）のプランクトンネット曳網を要した。

追跡中のブイの流向，流速と，ADCP（Acoustic Doppler Current Profiler）で観測した流向，流速は，一部（Patch 4でブイの流速分布がやや左に裾を引いている）を除いて，ほぼ同じ分布を示した。追跡ブイは表層の流れをとらえていたといえる。もし，仔魚が海の流れに受動的に従って輸送されていれば，ブイを追いかけながらブイ周辺で連続的に採集することで，同じパッチから仔魚が採集できる。実際に，追跡中にクロマグロ仔魚の体長組成の体長モードは経日的に増加した（0.2 ～ 0.9 mm day^{-1}）。別途，耳石輪紋解析から得られたクロマグロ仔魚期の成長速度は0.25から0.85 mm day^{-1}であり，体長モードから推定した成長速度とほぼ一致した。したがって，仔魚は受動的に輸送されており，一部（仔魚の採集がとても少なかったPatch 8の追跡2日目）を除くと，全てのパッチの追跡に成功し，同じパッチから連続してクロマグロ仔魚を採集できたといえる。

輸送，分布生態

パッチ追跡中の適切な観測範囲，観測方法を把握する目的で，パッチの水平的な大きさを，小規模（数百m ～ 1 km）から中規模（～ 20 km四方）のスケールでとりまとめた。パッチは複数のコホート（同じ日に孵化した発生群）で構成されていた。バリオグラム（variogram）を用いて，仔魚分布の空間構造を把握した。バリオグラムのパラメータの一つであるレンジ（観測点間の仔魚密度の相関が無くなる距離で，本研究ではパッチの水平的な大きさの指標とした）は追跡中に有意に変化せず，DAHが進んでも有意に変化しなかった。典型的には15 km四方程度の範囲にパッチは広がり，少なくとも数日から1週間程度は，輸送されている途中のパッチの空間構造は安定的であったと考えられた。安定的であったとは，詳細な水平分布はそのときの外的要因（海況や捕食）により変容するものの，平均15 km四方程度の範囲で全体としてまとまりを失わないことと考えられる。

クロマグロ仔魚の鉛直分布については，混合層（水深50 mまで）のより上層にのみクロマグロ仔魚は分布し，明瞭な日周鉛直移動性は示さなかった。パッチを構成する仔魚個体は，産卵海域に分布する中規模渦（半径100から500 km）の流れに従って，ともに輸送されると考えられた。この渦は産卵海域をゆっくりと西進（1日あたり8 km程度）し，そのうちのいくつかは黒潮に融合する特徴がある。産卵海域と1000 km北方に存在する加入域は黒潮によってリンクされている。以上から，パッチをとらえるとしたら，7.5 kmおきにサンプリングするのが適当であろう。パッチ全体を観測する必要があれば，30 km四方程度を観測範囲とするべきである。また，本研究で用いた空間統計学的手法で仔魚密度の等密度線を描画し，観測海域の仔魚密度を推定するには，一日の観測点は少なくとも7点，もしくはそれ以上が望ましく，ラグを同一とするために観測点間距離は一定とするのが望ましい。

初期成長と生残

クロマグロ仔魚は昼夜で体長組成が明瞭に異なっていたので，ネット逃避が起きていたといえる。また，プランクトンネットの目合いによる体長組成も有意な違いを示したので，ネット逸出もおそらく起きていると考えられる。これらのことから，仔魚採集密度はネット逃避とネット逸出を考慮して補正する必要がある。

環境要因はパッチ間で大きくばらついた。水温は南西諸島沖のクロマグロの産卵期の表面水温の範囲をカバーしている。食物密度は既報と類似した値であった。従って，環境要因と仔魚の成長の関係を把握する目的に，得られた環境要因のデータは適切といえる。これらのデータを用いて行ったGLM（一般線型モデル）解析により，仔魚の成長（耳石径（*OR*），耳石の成長速度（*GR*））と水温，成層強度指数（水温と塩分の鉛直プロファイルから得られる。水柱を一様にするエネルギーで，大きいほど水柱の成層が強い），食物密度との関係を把握した。水温と食物密度は*OR*，*GR*に対して正の有意な効果を持ち，STPは*OR*に対してのみ正の効果があった。この解析で得られた回帰式を用いたところ，SL 6.0 mmまで成長する日数に場合によって1日の違いが生じる可能性が示唆された。環境要因の違いによってもたらされた成長の1日の遅れは，捕食に弱い仔魚期が長くなることにつながるので，生残に負の影響があるといえる。

全てのパッチで大きな耳石径と速い成長速度を示す仔魚ほど生残率が高かったと考えられた。DHA7以降の早い時期から体サイズ選択減耗（小さい個体がより減耗する傾向がある）と成長速度選択減耗（成長の遅い個体がより減耗する傾向がある）がみられ，日齢が進むに従って，その傾向がより明瞭になってきた。クロマグロは仔魚期において，その早期から，高成長が高生残をもたらすと考えられる。

飼育したカレイ科魚類の変態期に発現する形態異常とその防除に関する研究

有瀧真人（西海区水産研究所）

異体類の多くは，有用な水産資源として沿岸漁業や養殖漁業に深く関わっており，栽培漁業の対象種としても取りあげられてきた　代表的なヒラメやマコガレイをはじめ，わが国において種苗生産が試みられた異体類は12種にもおよぶ。しかし，どの種類においても白化や両面有色に代表される体色異常ならびに眼位や頭部骨格などに現れる形態異常が多発し問題となっているのに加え，その要因や発現機構については，ヒラメなどごく一部の種を除いて十分な検討がなされていない。本研究は，特に形態異常が多発するカレイ科魚類について基礎的な知見を収集し，それらをもとに形態異常の発現の機序や防除方法を明らかにすることを目的とした。

第１章．飼育したカレイ科魚類の変態に関わる形態異常

カレイ科魚類をふ化仔魚から人工環境下で飼育した場合，多くの種で変態期に形態異常魚が高い頻度で出現し，種苗生産の現場において大きな問題となっている。

本章では，マガレイやホシガレイを中心にカレイ科魚類８種について有眼側と無眼側の眼位，体色，上顎，胸鰭，両顎歯，鱗を測定・観察し，天然魚と比較することにより，形態異常魚にどのような変化が生じているかを検討した。その結果，全ての魚種において変態後の形態は，正常魚，白化魚（２タイプ），両面有色魚の４タイプに区分することが可能であった　また，それらの両体側形質の比較から，正常魚は天然魚と同様の変態を完了しているのに対し，白化魚は両側が無眼側の形態に，両面有色魚は両側が有眼側の形態に変態していることが明らかとなった　このことから，本研究で取り上げた仔魚期の形態異常は変態に関連した異常，すなわち“変態異常”であると結論づけた。

第２章．飼育したカレイ科魚類における変態異常発現の決定時期

変態異常を防除するには，その発現にどの発育期が最も深く関わっているかを解明することがきわめて重要である。異体類の中で，変態異常に関する試験・研究が先行して行われているヒラメでは，ブラジル産アルテミア（BA）を給餌することにより，ほぼ全ての個体が白化魚になることや，変態始動期の発育ステージにおいて最もその感受性の高いことが明らかにされている。

本章では，マガレイとホシガレイをモデル魚種として，BA の給餌開始時期を変えて飼育を行い，白化魚の出現状況からカレイ科魚類における変態異常発現の決定時期を検討した。その結果，上記両種は BA 給餌によって90 ～ 100％の個体が白化魚となった。また，BA を給餌した影響は，マガレイでは全長８mm，ホシガレイでは全長10mm までであり，影響を受ける発育期は両種ともステージＥ（変態初期）までであると判断された。すなわち，両種ともにステージＦ以降の仔魚では変態異常の発現は決定しており，ステージＥ以前がカレイ科魚類の変態異常発現にとって重要であると考えられた。

第３章．飼育したカレイ科魚類の変態異常と仔魚の成長および発育

異体類種苗生産のモデル種であるヒラメでは，変態異常に関して様々な研究が行われ，その発現の機序についても部分的に解明が進められている。しかし，カレイ科魚類では体系的な研究はこれまで全く行われていない。

本章では，カレイ科魚類における変態異常の出現機序の一端を明らかにすることを目的に，ふ化から変態までの時間が大きく異なるマガレイ，ホシガレイ，ババガレイの仔魚をそれぞれ６～24℃の水温下で飼育し，変態異常魚の出現状態と発育・成長の関係について検討した。上記３魚種ではともに，飼育水温の上昇に伴い発育・成長が促進された。その相対的な速度はマガレイ，ホシガレイ，ババガレイの順に早く，既存の知見に合致した。正常魚，白化魚，両面有色魚の出現率と飼育水温の関係は，種ごとに特有の傾向を有し，再現性もきわめて高かった。このうち正常魚の出現率が最も高くなる着底までの日数は，マガレイで最も早く，ホシガレイ，ババガレイの順に遅くなった。これら着底日は耳石微細輪紋より推定されている天然魚の値に近似した。このことから，変態異常の発現は，飼育環境では発育・成長過程が天然魚と大きくずれることに一因があると推察された。

第４章．水温を変えて飼育したカレイ科魚類の甲状腺ホルモンの動態

ヒラメや summer flounder では，甲状腺ホルモンが変態を制御していることが解明されている。異体類における白化や両面有色等の外部形態的異常が変態時の左右不相称化の異常と考えられることを先に述べたが，変態そのものが甲状腺ホルモンによって制御されている以上，これらの現象にも同ホルモンが関与していると予想される。

本章では，異なる水温で飼育したカレイ科魚類の変態期における甲状腺ホルモンの動態を詳細に観察する目的で，マガレイとホシガレイの３，５，３′－トリヨー

ドチロニン（T3）およびチロキシン（T4）の体組織中濃度を測定した。その結果，各水温のT3の動態は2魚種とも全体に低いレベルで推移し，水温との関係が明瞭でなかったが，T4は両種とも高水温ほど最大値が低くなる傾向が認められた。また，組織中のT4濃度は仔魚の発育進行に伴って有意に変動し，すべての水温区において変態期間中にピークを示した。さらにそれらは高水温ほど早期に認められた。甲状腺ホルモンが，飼育魚の変態後の形態の決定に関与しているとすると，白化や両面有色の出現動態は，これら組織内の濃度もしくは，ピークの時期に大きく影響されている可能性が高い。

第5章．カレイ科魚類の変態異常の防除と発現の機序

本研究において，変態期に発現するカレイ科魚類の形態異常は変態の異常であり，その出現状況は飼育水温よって種ごとに異なることを明らかにした。また上記変態異常は，飼育魚の発育・成長が天然魚とは異なるために発現すると結論づけた。ヒラメでは変態が甲状腺ホルモンによって制御されていることが確認されており，他の異体類においても甲状腺ホルモンが変態を制御する上で主要な役割を果たしていることはほぼ間違いないと考えられる。本研究でも異なった水温で飼育したマガレイとホシガレイでは，T4の分泌ピークや時期が発育に連動して異なることを明らかにし，その動態と変態異常出現の関連が強く示唆された。著者は，ホシガレイとヌマガレイを用いて仔魚のT4浸漬試験を行い，浸漬のタイミングによって変態異常の出現に一定の傾向が生ずることを明らかにしつつある。カレイ科魚類の変態後の形態は，おそらく種ごとに異なった発育速度とT4分泌のタイミングによって決定されており，そのずれが変態異常を発現させるのではないかと推定される。

したがって，カレイ科魚類の変態異常を防除するためには，対象種の初期生態を精査し，その種の発育・成長特性に従って飼育することがきわめて重要であると考えられる。また，変態異常の防除技術を一層進展させるためにも，遺伝子レベルでの変態機構の解明など，今後はその機序をさらに多面的に詳しく検討していくことが求められる。

水産総合研究センター研究報告

Bulletin of Fisheries Research Agency

編集委員会

編集委員長　皆川　惠

編 集 委 員　鈴木満平，岸田　達，横山雅仁，中田　薫，秋山秀樹，小谷祐一，生田和正，中嶋員洋，與世田兼三，本多　仁，渡部俊広，伊藤文成，川崎　清，堀川博史

平成25年３月31日　発行

発 行 所　独立行政法人　水産総合研究センター

〒220-6115　神奈川県横浜市西区みなとみらい2-3-3　クィーンズタワーＢ　15階

Fisheries Research Agency

Queen's Tower B 15F, 2-3-3, Minato mirai, Nishi-ku, Yokohama, Kanagawa.

220-6115 Japan

http://www.fra.affrc.go.jp

発 行 者　松里壽彦

印 刷 所　日昇印刷株式会社

ISSN 1346-9894

BULLETIN OF
FISHERIES RESEARCH AGENCY

No. 37
March 2013

Bull.Fish.Res.Agen.

CONTENTS

Doctoral Thesis

Mass Balance and Bioaccumulation of Major Dioxins in Sendai Bay
Yutaka OKUMURA 1

Patch study on the early life ecology of Pacific bluefin tuna, Thunnus orientalis, in the Nansei Islands, northwestern Pacific Ocean
Keisuke SATOH 85

Studies on the morphological abnormality of Pleuronectidae: focusing on the metamorphosis-related malformation in hatchery reared fish and its prevention
Masato ARITAKI 147

Stock enhancement in black-spot tuskfish Choerodon schoenleinii
Taku SATO, Yuuki KAWABATA, Koich OKUZAWA, Kimio ASAMI, Masato KOBAYASHI, Hideaki YAMADA, Kouki FUKUOKA, Kenzo YOSEDA, Takayuki TAKEBE, Narisato HIRAI, Yuichi AKITA, Atushi NANAMI, Itaru OHTA, Nobuaki SUZUKI, Masayuki CHIMURA, Yoshimasa AONUMA, Masaya KATOH, Takuro SHIBUNO, and Kazuhisa TERUYA 65

Abstract (JAPANESE) 199